

**UNIVERSIDAD DE PANAMA**

**VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO**

**PROGRAMA CENTROAMERICANO DE MAESTRIA EN ENTOMOLOGIA**

**FACTORES ECOLOGICOS Y ESTRUCTURALES DE LA PALMA**  
*Acrocomia aculeata* ASOCIADOS CON LOS INDICADORES  
**ENTOMOLOGICOS DE LOS VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE**  
**CHAGAS EN EL DISTRITO DE PEDASI, PROVINCIA DE LOS SANTOS,**  
**PANAMA**

**POR**

**INDRA GISELLE RODRÍGUEZ LASCANO**

**PANAMA, REPÚBLICA DE PANAMA**

**2017**

**FACTORES ECOLÓGICOS Y ESTRUCTURALES DE LA PALMA *Acrocomia aculeata* ASOCIADOS CON LOS INDICADORES ENTOMOLÓGICOS DE LOS VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL DISTRITO DE PEDASÍ, PROVINCIA DE LOS SANTOS, PANAMÁ**

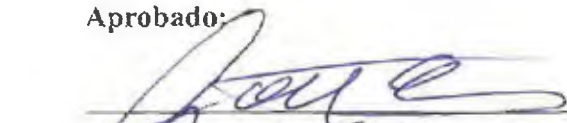
**TESIS**

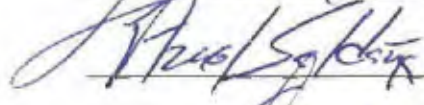
**Presentada como uno de los requisitos para optar al título de  
Magister en Ciencias con énfasis en Entomología**

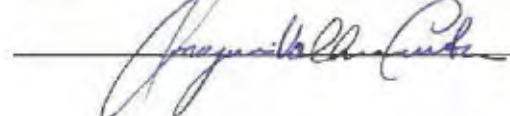
**VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**

**Permiso para su publicación total o parcial debe ser obtenido en la Vicerrectoría de  
Investigación y Postgrado.**

**Aprobado:**

 \_\_\_\_\_ Asesor

 \_\_\_\_\_ Jurado

 \_\_\_\_\_ Jurado

## DEDICATORIA

*A mis padres, Irma Reina y Julio Ernesto, quienes desde mi niñez me brindaron su cuidador, amor y apoyo incondicional para llegar ser quien soy hoy en día.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por cada segundo de vida por todas sus bendiciones y por su infinita misericordia. Los tiempos de Dios son perfectos.

Al Doctor Jose E. Calzada, por ser mi asesor y guía desde hace siete años, por su amistad incondicional y por su infinita paciencia. Sus valiosos consejos, conocimientos y palabras de ánimo fueron cruciales para poder culminar este trabajo.

Al Doctor Azael Saldaña por todo su apoyo durante la realización de las giras de campo y el trabajo de laboratorio. Por permitirme utilizar las instalaciones del Departamento de Parasitología del Instituto Conmemorativo Gorgas y por todos sus conocimientos aportados para la realización de este proyecto.

Al Dr. Luis Chavez por sus significativos y valiosos aportes en los análisis estadísticos además de sus consejos y guías en la confección de este proyecto.

A la Doctora Anayansi Valderrama, por sus importantes aportes en la confección de este trabajo y por aceptar ser parte del jurado calificador.

Al Doctor Enrique Medianero, tutor, amigo e importante guía durante mi estancia en el Programa Centroamericano de Maestría en Entomología. Siempre exhortándonos a dar lo mejor de cada uno como profesionales y como personas.

Al Doctor Jose Loarza, por transmitirnos su pasión por la investigación, y por alentarnos siempre a ser profesionales de alta calidad. Sus valiosos consejos, aportes y sugerencias fueron decisivos en mi formación como Entomóloga.

Al Doctor Juan Gomez por darme la oportunidad de formar parte del equipo del Programa Centroamericano de Maestría en Entomología y por hacer de este sueño, una realidad.

Al todo el personal del Departamento de Parasitología del Instituto Conmemorativo Gorgas, en especial al Licenciado Kadir Gonzalez al Licdo Alberto Cumbrera, a las Licenciadas Vanesa Pineda, Ana Maria Santamaria, Milixa Perea y Chrystie Rigg y a los Sres Jose Montenegro y Roberto Rojas Su ayuda y colaboracion durante la realizacion de este proyecto son invaluables

A la Fundacion Deveaux y al Instituto de Investigaciones Cientificas y Servicios de Alta Tecnologia (INDICASAT AIP) por sus significativos aportes monetarios para la realizacion de este proyecto

Al Sistema Nacional de Investigacion (SNI, SENACYT) por permitirme formar parte de este prestigioso grupo y por financiar gran parte de los costos de este proyecto de investigacion

Al Mgtr Ricardo Carrasco amigo y guia desde hace muchos años y principal inspiracion y ejemplo para convertirme hoy en día en Entomóloga

A mis compañeros de trabajo, el Ing Jaime De Leon, el señor Victor Young, y el Mgtr Rodrigo Chang quienes siempre me brindaron su apoyo para cualquier consulta referente a las materias tratadas en la Maestria

A todo el personal que labora en el Programa Centroamericano de Maestria en Entomologia en especial a Vickelda Perez Vergara y a todos los profesores que dedicaron su tiempo para hacer de nosotros, sus estudiantes, profesionales exitosos que dejemos el nombre de nuestra profesion muy en alto en donde quiera que nos encontremos

A mis padres hermanos y amigos, en especial a la Mgtr Ana Victoria Rivera Tejada, a la Dra Yvonne Malet por su amistad incondicional y su voz de aliento en los momentos en que mas lo necesite

A todas las personas que de una forma u otra influyeron de manera positiva en mi formación como Entomóloga.

¡A todos, mil gracias!

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	IV
RESUMEN	I
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
1. MARCO TEÓRICO	7
1.1 Generalidades	7
1.2 Sintomatología, diagnóstico y tratamiento	11
1.3 Epidemiología y ciclos de transmisión de <i>Trypanosoma</i>	14
1.4 Animales reservorios	17
1.5 Chinchés triatominos	19
1.5.1 Vectores de <i>T. cruzi</i> y <i>T. rangeli</i>	19
1.5.2 Potencial vectorial de <i>Rhodnius pallescens</i> y <i>Triatoma dimidiata</i>	21
1.6 Estatus taxonómico	26
1.7 Prevención y control	28
2. HIPÓTESIS	30
3. OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo General	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4. MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1 Área de estudio	32
4.2 Muestreo de palmas	33
4.3 Caracterización fisonómica de las palmas	34
4.4 Colecta de triatominos	35
4.5 Infección de triatominos con <i>Trypanosoma spp.</i>	37

4 6 Aislamiento y caracterización de <i>T. cruzi</i>	39
4 7 Consideraciones éticas	39
4 8 Análisis estadísticos	40
4 8 1 Análisis descriptivos	40
4 8 2 Análisis espacial de las palmas	41
4 8 3 Análisis multivariantes	42
4 8 3 1 Infestación de palmas por triatominos	42
4 8 3 2 Infección de triatominos con <i>Trypanosoma spp</i>	43
4 8 3 3 Selección de variables	44
4 8 3 4 Manejo del problema de la separación perfecta en regresión logística	44
4 8 3 5 Suposición de independencia espacial de los modelos lineales generalizados	46
5 RESULTADOS	47
5 1 Infección de chinches con <i>Trypanosoma spp</i>	50
5 2 Aislamiento y caracterización de la cepa de <i>T. cruzi</i>	50
5 3 Patrón espacial de las palmas	51
5 4 Análisis multivariantes	54
5 4 1 Infestación de palmas por triatominos	54
5 4 2 Cambios en la abundancia de triatominos	54
5 4 3 Infección en triatominos con tripanosomas	55
5 4 4 Validez de los modelos empleados	55
6 DISCUSIÓN	60
6 1 Patrón espacial de las palmas	64
6 2 Factores de riesgo asociados con los indicadores entomológicos	64
7 CONCLUSIONES	70
8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
9 ANEXO	93



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>T cruzi</i> Agente causal de la enfermedad de Chagas	7
Figura 2 Casos estimados de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial	8
Figura 3 Signo de Romaña presentado durante la fase aguda de la Enfermedad de Chagas	12
Figura 4 Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en Panama	15
Figura 5 Ciclo de transmision de <i>T cruzi</i>	16
Figura 6 <i>Didelphis marsupialis</i> Considerada el principal reservorio silvestre de <i>T cruzi</i>	18
Figura 7 Principales vectores de <i>T cruzi</i> en Panama	20
Figura 8 Fig 8 Area de estudio Distrito de Pedasi Provincia de Los Santos, Republica de Panama	33
Figura 9 Sitios de muestreo	34
Figura 10 Ejemplo de palma de corozo <i>A aculeata</i> y palma real <i>A butyraceae</i>	35
Figura 11 Trampas cebadas con ratones, colocadas en las coronas de las palmas para la captura de triatominos	36
Figura 12 Colocacion de trampas y realizacion de la encuesta en palmas durante las cuatro giras de colecta en el Distrito de Pedasi	38
Figura 13 Triatominos colectados en el Distrito de Pedasi	48
Figura 14 Electroforesis de los productos amplificados mediante PCR multiplex basado en la amplificacion del gen del mini exon (Fernandes <i>et al</i> , 2001)	51
Figura 15 Funcion <i>L</i> esperada y ajustada para el poligono de area peridomiciliar	52
Figura 16 Funcion <i>L</i> esperada y ajustada para el poligono de area de potreros	53

## INDICE DE TABLAS

Tabla N°1 Resultados generales y las estadísticas descriptivas del estudio	49
Tabla N°2 Odds ratios y parámetros estimados para los mejores modelos logísticos que explican la infestación de las palmas por triatominos de diferentes estadios	57
Tabla N°3 Cambios en la abundancia y estimaciones de parámetros para los mejores modelos de Poisson que explican la abundancia de triatominos, de diferentes etapas por palma	58
Tabla N°4 Tasa proporcional cambio y parámetros de estimación para el modelo de tasa de Poisson explicando la infección de triatominos con <i>Trypanosoma cruzi</i> en triatominos de palmas infestadas	59

## RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria de curso crónico causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. En este estudio se describen la presencia y las características ecobiológicas de vectores de Chagas en las palmas *Acrocomia aculeata* del distrito de Pedasí, provincia de Los Santos, Panamá. A su vez se identifican varios factores de riesgo asociados con la presencia de los vectores en estas palmas. Para ello, se realizaron cuatro giras de colecta de mayo de 2015 a agosto de 2016. Se evaluaron 83 palmas adultas de la especie *A. aculeata* clasificadas en palmas peridomesticas, ubicadas a menos de 100 metros de las viviendas, y palmas de potreros, ubicadas en potreros alejados al menos 5km de las viviendas. Cada palma fue geo-referenciada y se le aplicó una encuesta para determinar sus características físicas. Para la colecta de triatomíneos se colocaron dos trampas cebadas con ratones en la corona de cada palma. Se colectaron 62 triatomíneos de la especie *Rhodnius pallescens* y un *Eratyrus cuspidatus*. Mediante microscopia se determinó la tasa de infección con tripanosomas en los chinches colectados (67%, 20/30), y por medio de un análisis de PCR Multiplex realizado en una submuestra de los chinches, se constató la infección natural por *T. cruzi* y/o *T. rangeli*. Se lograron aislar y caracterizar tres cepas de *T. cruzi* a partir de parásitos presentes en las heces de los vectores, todas pertenecientes al linaje Tc I. Los análisis de regresión indican que la temporada de muestreo, el número de racimos y la altura influyen en la abundancia y en la infestación de las palmas. Por otro lado, factores como la presencia de pencas verdes y la cercanía de las palmas a las casas aumentan la probabilidad de infección en triatomíneos con tripanosomas. Esta información es importante para orientar las medidas de control y prevención para la enfermedad de Chagas en esta región del país.

## ABSTRACT

Chagas disease is a chronic parasitic infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. This study describes the presence and the ecobiological characteristics of Chagas vectors in the *Acrocomia aculeata* palms of the district of Pedasí, province of Los Santos, Panama. In addition, several risk factors associated with the presence of the vectors in these palms were identified. Four vector samplings were carried out between May 2015 to August 2016. We evaluate 83 adult *A. aculeata* palms, classified as "peridomestic palms" when located less than 100 meters from the dwellings and "cattle pasture palms" located in farms at least 5 km from the dwellings. Each palm was geo-referenced, and a survey was applied to determine their physiognomic characteristics. For the collection of triatomines, two mice baited traps were placed in the crowns of each palm. A total of 62 triatomines of the species *Rhodnius pallescens* and one *Eratyrus cuspidatus* were captured. By microscopy, the natural infection rate with trypanosomes in the collected bugs was 67% (20/30). By means of a Multiplex PCR analysis performed in a sub sample of bugs, the presence of *T. cruzi* and/or *T. rangeli* was determined. Three strains of *T. cruzi* were isolated and characterized from parasites present in the feces of the vectors, all belonging to the Tc I lineage. Regression analyzes indicate that the sampling season, the number of infructescences and height of the palms significantly influence the abundance and infestation of the palms with triatomines. On the other hand, factors such as the presence of green leaves and the proximity of palms to the houses increase the probability of infection in triatomines with trypanosomes. This information is important to guide the control and prevention measures for Chagas disease in this region of the country.

## INTRODUCCION

La tripanosomiasis americana también conocida como Enfermedad o Mal de Chagas, es una infección parasitaria sistémica de curso crónico ocasionada por el protozoario *Trypanosoma cruzi* (Urbano *et al*, 2015) En América, 21 países son considerados endémicos, y se estima que nueve millones de personas se encuentran infectadas actualmente (WHO, 2012, 2017) En la actualidad no existe una vacuna, los medicamentos disponibles sólo son parcialmente útiles y su principal medida de control se enfoca en la eliminación de los vectores, chinches hematófagos de la familia Reduviidae (Romanha *et al* 2010)

Los principales vectores del *T. cruzi* en América del Sur son insectos domiciliados, situación que hace su control mediante insecticidas una tarea relativamente más fácil, pero costosa (Dias *et al* 2002) Una condición diferente se observa en Panamá en donde el vector principal, *Rhodnius pallescens* es un insecto selvático que tiene como ecotopo principal a las palmas reales, *Attalea butyracea* (Whitlaw y Chamotis, 1978) Esta especie de palma prevalece en todo Panamá y está ampliamente distribuida en diferentes hábitats, desde bosques primarios y secundarios, hasta sabanas y praderas creados por la agricultura y la ganadería (Christensen y De Vasquez, 1981) Incluso se desarrolla en hábitats alterados por las actividades humanas y, a veces, a pocos metros de las viviendas humanas *Attalea butyraceae* mantiene condiciones adecuadas de humedad, temperatura y alimento para el desarrollo de *R. pallescens* Del mismo modo, la zarigüeya común

(*Didelphis marsupialis*), que es un importante reservorio para *T. cruzi*, comunmente las utiliza como refugio. Por ello, la presencia de estas palmas cerca de las casas se considera como un factor de riesgo para la infección de Chagas en humanos (Hurtado *et al* , 2014)

En muchas ocasiones *R. pallescens* invade las casas en busca de alimento o es atraído por la luz. Este vector ha sido reportado en Panamá, Colombia, Costa Rica y Nicaragua. En Panamá su distribución está firmemente asociada a la de las palmas reales y con frecuencia se le encuentra en las viviendas cercanas a estas (Whitlaw y Chamotis, 1978, Saldaña *et al* , 2008). Sus poblaciones se reportan a lo largo de la vertiente del Pacífico, desde la provincia de Darién hasta la de Bocas del Toro (Sousa y Johnson, 1973). Sin embargo, la mayoría de los estudios referentes a este insecto se han efectuado con ejemplares colectados en la provincia de Panamá en la parte central del Istmo (Vásquez *et al* 2004). *Rhodnius pallescens* es también el vector del *T. rangeli*, un hemoflagelado humano de muy alta frecuencia en Panamá, pero al cual no se le asocian estados patológicos (Sousa y Johnson, 1973, Vasquez *et al* , 1997).

En Panamá la enfermedad de Chagas se considera endémica y las condiciones eco-epidemiológicas adecuadas para su transmisión han sido reportadas en casi todas las provincias del país (Sousa y Johnson, 1971, Sousa, 1972). A pesar de esto, la mayoría de los estudios que definen el estatus de la enfermedad de Chagas en Panamá se han enfocado en las comunidades endémicas tradicionales en la zona central del Istmo, además de realizarse muestreos casi exclusivamente en la palma real (*A. butyraceae*) (Fig 10b). Pocos estudios han evaluado otras especies de palmas como posible ecotopo

natural de vectores de Chagas en el país. Una de estas es la palma de corozo *A. aculeata* cuyas características fisonómicas son similares en muchos aspectos, a las de la palma real. Por tal razón, es probable que existan otras regiones en el país que reúnen las condiciones propicias para la transmisión de la enfermedad de Chagas pero que aún no han sido investigadas detalladamente (Saldaña *et al* 2012).

Como parte de las actividades planteadas por la Iniciativa Centroamericana para la Eliminación de la Enfermedad de Chagas, durante los últimos años las autoridades panameñas han unido esfuerzos para detectar nuevas regiones endémicas y mejorar la vigilancia activa de casos. Gracias a esto recientemente se han descubierto nuevos focos endémicos del Mal de Chagas en comunidades rurales de Panamá Este y la provincia de Veraguas (Calzada *et al* , 2010 Saldaña *et al* , 2012). Una de las zonas del país en donde muy poco se ha investigado sobre el Mal de Chagas es la región de Azuero. Actualmente no se tienen registros de la presencia de *R. pallescens* en las provincias de Herrera y Los Santos. En el distrito de Pedasi, *A. butyraceae* y otras especies de palmas con características fisonómicas muy parecidas son abundantes. Anteriormente Pedasi poseía una de las pocas franjas de bosque seco tropical de Panamá, sin embargo, el área fue extensamente deforestada para el desarrollo de la ganadería durante la época colonial española dejando a muchas de las colinas y tierras bajas desnudas. En este escenario ecológico la palma de corozo *A. aculeata* ha tenido un importante éxito ecológico y reproductivo en esta región, en donde obtiene las condiciones adecuadas para su desarrollo. En otros países *A. aculeata* ha sido asociada a diversas especies del género

*Rhodnius* todas reconocidas como vectores de *T. cruzi* (Abad Franch *et al* , 2005) En Panama, sin embargo se desconoce su papel como ecotopo importante para vectores de este parasito

Tomando estos elementos como base, aunado la escasez de investigaciones sobre la Enfermedad de Chagas en la region de Azuero el proposito de este estudio es describir la presencia y las características ecobiológicas de vectores de Chagas en las palmas *A. aculeata* del distrito de Pedasi provincia de Los Santos De igual forma, se busca identificar factores de riesgo asociados con la presencia de los vectores de Chagas en estas palmas Los resultados obtenidos aportaran conocimientos que permitan establecer y estratificar el riesgo de transmision de la enfermedad de Chagas en esta zona de Panama



## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Generalidades

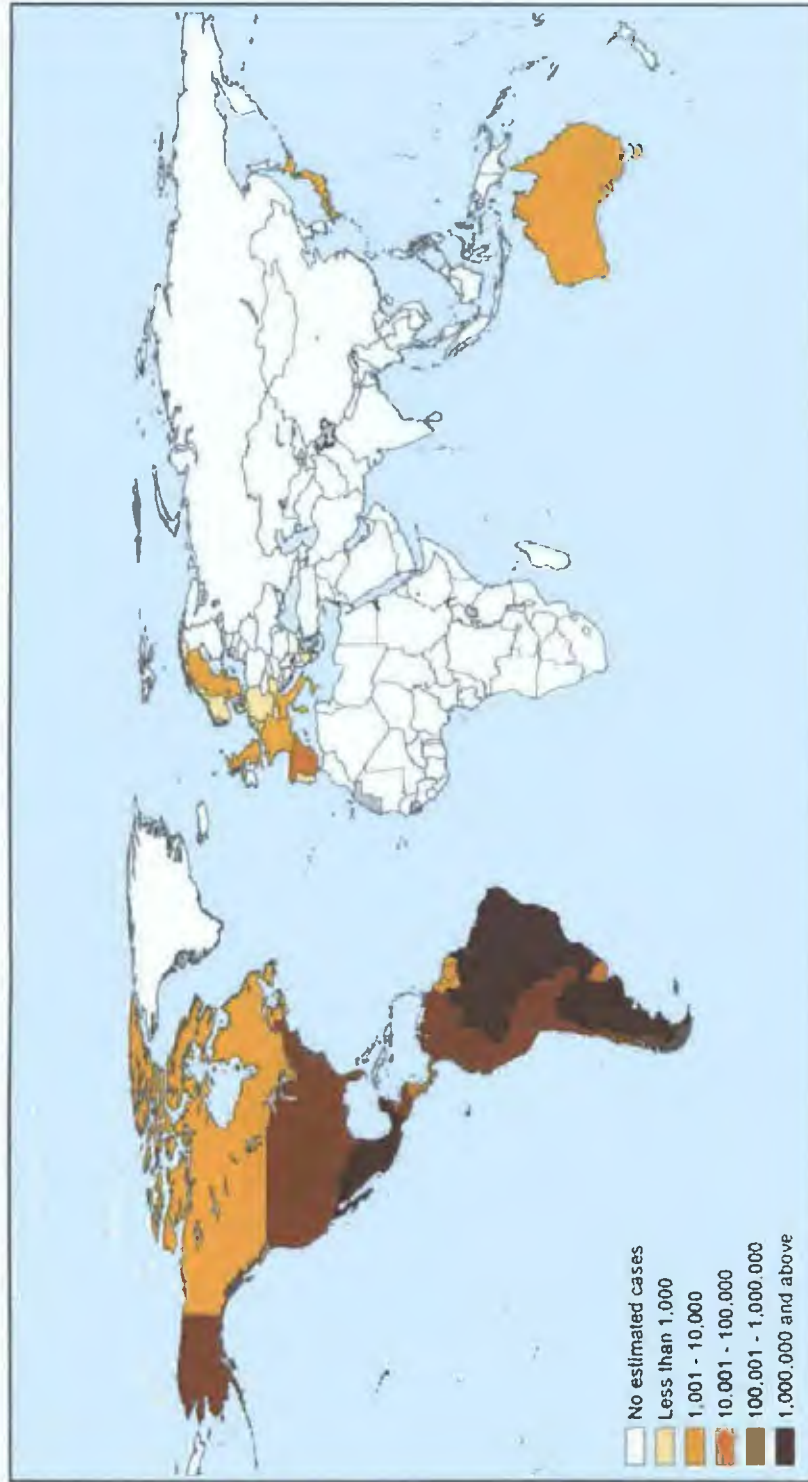
La tripanosomiasis americana es una infección parasitaria sistémica de curso crónico ocasionada por el protozooario *T. cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (Fig.1). Esta infección es comúnmente conocida como el Mal de Chagas, en honor al médico-investigador brasileño Carlos Chagas, quien descubrió el agente causal en 1907 (Urbano *et al.*, 2015). En América 21 países son considerados endémicos, entre ellos, Brasil, Argentina, Chile, Venezuela, Colombia y Bolivia, y se estima que nueve millones de personas se encuentran infectadas actualmente (OPS, 2007; WHO, 2017) (Fig.2). En Panamá, *T. rangeli* es otra especie que parasita a humanos, pero su importancia en salud pública es significativamente menor que la de *T. cruzi*, ya que no produce patología en seres humanos.



Fig. 1 *T. cruzi*. Agente causal de la enfermedad de Chagas.

Fuente: <http://flech.org.ar/chagas/>

## Estimación global de la población infectada con *T. cruzi*, 2009



### Sources

1. OPSA/IDMC/CD425.06 Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas
2. Guem-Gutierrez RA, Grana D R, Giuseppe Ambrosio, Miki J. Chagasic cardiomyopathy. Europe is not spared! European Heart Journal (2008); 29: 2587-2591.
3. Schmunis G A. Epidemiology of Chagas Disease in non-endemic countries. The role of international migration. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro Vol 102(Suppl 1): 75-85, 2007.
4. De Ayala A P, Pérez-Molina J A, Norman F., and López-Vélez R Chagasic cardiomyopathy in immigrants from Latin America to Spain. Emerging Infectious Disease Volume 15, Number 4- April 2009
5. According to the numbers of immigrants registered for 2007 in the website of the Japanese Ministry of Justice and estimated seroprevalence for non endemic countries according to Pantoja-Talayero J M. Vigilancia epidemiológica de la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas en tres maternidades de la Comunidad Valenciana. Enferm Infect Microbiol Clin 2008;26(10): 609-13

Fig. 2 Casos estimados de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial.

Fuente: [http://thehealthcoach1.com/wp-content/uploads/2012/06/MapChagasJun09\\_large.jpg](http://thehealthcoach1.com/wp-content/uploads/2012/06/MapChagasJun09_large.jpg)

En Panama los estudios sobre el Mal de Chagas iniciaron el siglo pasado en la decada de los años treinta al reportarse los primeros casos en niños menores de dos años (Miller, 1931) Cabe destacar que inicialmente los investigadores no contaban con herramientas de diagnostico precisas para identificar la especie de *Trypanosoma* causante de la infeccion en humanos Debido a esto, los articulos de esta epoca hacen referencia a parasitos morfologicamente similares a *T cruzi* (Clark y Dunn, 1932, De Coursey, 1935, Johnson y De Rivas, 1935, Johnson, 1938) Los investigadores Jhonson y Kelser (1937) publicaron el primer estudio epidemiologico sobre el Mal de Chagas en Panama, pero en los años subsiguientes no hubo publicaciones relacionadas A finales de la decada de los cincuenta el numero de publicaciones cientificas incrementó, en parte debido a los trabajos de Octavio Sousa sobre la biologia y ecologia de los chinches triatominos y la distribucion de *T cruzi* y *T rangeli* a nivel nacional El Doctor Sousa reporto ademas tres especies de chinches infectadas naturalmente con *T cruzi*, y trabajo en el desarrollo de nuevos metodos de diagnóstico, sus estudios contribuyeron considerablemente al mejor entendimiento de la epidemiologia del Mal de Chagas en la Region Neotropical

Otros investigadores realizaron importantes aportes cientificos en las decadas de los ochentas y noventas, desarrollando lineas de investigacion enfocadas en la biologia del parasito la patogenesis y el tratamiento de la enfermedad (Blandón *et al* , 1969, Sousa, 1972, Johnson *et al* , 1971, Edgcomb *et al* , 1973, Wood, 1975, Wood y Sousa, 1976, Blandon *et al* , 1976, Blandon *et al* , 1981) Conjuntamente, el énfasis en investigacion fue puesto sobre los principales componentes del ciclo de transmision incluyendo

estudios sobre la taxonomia de los insectos vectores e identificacion de los animales vertebrados reservorios de *T. cruzi* (Sousa y Adames, 1977, Mendez y Sousa, 1979, Chamotis *et al* , 1980, Christensen y Vasquez 1981 Sousa *et al* , 1983, Christensen *et al* 1988, Mendez *et al* , 1997.) Mas recientemente se realizaron avances importantes en las tecnicas utilizadas para la deteccion de los parasitos, destacandose las pruebas serologicas y moleculares desarrolladas por Saldaña *et al* , (1995), Vasquez *et al* (1997) y Brandao *et al* (2007)

Las investigaciones sobre el Mal de Chagas continuaron en Panama y su enfoque fue evolucionado progresivamente. En la actualidad las tendencias de investigacion se centran en estudios que permitan entender mejor la ecologia de la enfermedad. En este marco conceptual holistico no solo se toma en cuenta la triada epidemiologica clasica (Parasito – Vector – Hospedero) sino tambien el entorno donde ocurre la transmision. Por ejemplo hoy dia se investiga el efecto de las alteraciones humanas sobre los distintos tipos de habitats y la relacion que guardan estos cambios con la dinamica de transmision. Estudios recientes que incorporan estas nuevas tendencias en investigacion fueron propuestos por Gottdenker *et al* (2011-2012) quienes utilizaron la teoria ecologica de las comunidades para entender como la perturbacion del habitat afecta las interacciones entre vectores, reservorios y demas animales vertebrados hospederos que forman parte del ciclo enzoótico del Mal de Chagas.

## 1.2 Sintomatología, diagnóstico y tratamiento

En humanos el Mal de Chagas transcurre en dos fases principales: la aguda se presenta en individuos de todas las edades, pero afecta mayormente a niños (Sousa, 1972, Blandon *et al* 1976, Blandon *et al* , 1981). Durante la fase aguda se puede desarrollar un edema en la región facial conocido como signo de Romaña (Fig 3) aunque muchos pacientes no presentan esta sintomatología (Sousa, 1972). Los síntomas comunes en los casos registrados en Panamá son los trastornos cardíacos como arritmia, cardiomegalia y disfunción en la conducción nerviosa, así como también fiebre, adenitis cervical y submaxilar. No obstante, también es común el registro de pacientes sin manifestaciones clínicas evidentes (Miller, 1931, Clark y Dunn 1932, DeCoursey 1935, Johnson y De Rivas, 1935, Johnson, 1960). Los casos en fase aguda con desenlace fatal se caracterizan por desarrollar disnea severa progresiva, miocarditis con arritmia, cardiomegalia, vómito y anuria. Luego de la fase aguda, las personas infectadas continúan asintomáticas, y son considerados enfermos en fase crónica con serología positiva (Sousa 1972).

Durante el primer lustro posterior al descubrimiento del Mal de Chagas en Panamá se habían detectado muy pocos casos (Miller, 1931, Johnson y De Rivas 1935, Blandon *et al* 1981). Incluso en la actualidad el diagnóstico del Mal de Chagas es accidental en el país, y frecuentemente los pacientes ingresan al hospital por otras causas sin saber que están infectados con *T. cruzi*. Johnson y Kelser (1937) atribuyen este problema a la aparición irregular de los parásitos en sangre y a la imprecisión del examen microscópico. Igualmente, la inoculación de animales susceptibles con *T. cruzi* y el xenodiagnóstico con

insectos vectores son métodos ineficaces para detectar volúmenes bajos de parásitos en sangre.



**Fig. 3** Signo de Romaña presentado durante la fase aguda de la Enfermedad de Chagas.  
Fuente: Journal of Young Investigators. <http://thehealthcoach1.com/?p=2408>

Johnson y Kelser (1936, 1937) utilizaron inicialmente la prueba de fijación de complemento para investigar la incidencia del Mal de Chagas en Panamá. Esta prueba, preparada a partir de cultivos de *T. cruzi*, fue considerada en aquel momento un método de diagnóstico apropiado debido a que no registraba reacciones cruzadas entre especies distintas de *Trypanosoma*. Posteriormente otros estudios aportaron pruebas serológicas y bioquímicas para la detección de *T. cruzi* que fueron ampliamente utilizadas desde los años setenta hasta finales de los noventa (Sousa y Johnson, 1971; Sousa y Johnson, 1973; Sousa y Dowson, 1976; Blandón *et al.*, 1981; Kreutzer y Sousa, 1981). Más

recientemente se dieron avances significativos en el diagnóstico y la caracterización de los parásitos implementándose técnicas moleculares como la secuenciación de ADN automatizada en Sanger y los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (Kreutzer y Sousa, 1981 Sousa *et al* , 2006, Brandao *et al* , 2007) Estas técnicas modernas tienen un costo elevado debido a los reactivos y equipos especializados necesarios para realizarlas, mientras que las pruebas serológicas recientes son herramientas poderosas de diagnóstico rápido, preciso y de menor costo (Vasquez *et al* 2004 Samudio *et al* 2007 Brandao *et al* 2007, Pineda *et al* , 2008)

Son pocos los estudios que se han realizado en Panamá sobre el tratamiento de los enfermos de Chagas. Los primeros casos reportados en el país fueron tratados sintomáticamente y no se les administró ningún medicamento (Miller, 1931) Blandon *et al* (1969) administraron distintos tratamientos entre ellos, Primaquina, Levofuraltadone, Isopentaquina y Metronidazol a 47 pacientes, 44 de ellos en fase aguda. El Metronidazol resultó ser la droga más prometedora ya que ninguno de los pacientes tratados con este fármaco desarrolló intolerancia o falleció durante el seguimiento. En la actualidad las drogas más utilizadas para el tratamiento de Chagas en Panamá son el Nifurtimox (Nif) 5-nitrofurán (3-metil-4-(5'-nitrofurfurylideneamino) tetrahydro-4H-1,4-tiazina 1,1-dioxido (Bayer 2502) y el Benznidazole (Bz) 2-nitroimidazole (N-benzil-2-nitroimidazole acetamida (RO 7 1051). Estos compuestos fueron desarrollados hace más de cuatro décadas, tienen una eficacia limitada y generan efectos secundarios nocivos.

especialmente en pacientes en fase crónica (Coura y De Castro 2002, Rocha *et al* 2007, Soeiro *et al* 2009, Romanha *et al* , 2010)

### 1.3 Epidemiología y ciclos de transmisión de *Trypanosoma*

El Mal de Chagas ha sido detectado mayormente en la región central del país en las provincias de Panama, Cocle y Colon, donde la tasa de infección en humanos oscila entre 0.5 y 8.8% (Sousa y Johnson, 1971) (Fig 4). Sin embargo, se han reportado condiciones apropiadas para la transmisión de *T. cruzi* en casi todas las provincias del país (Sousa, 1972). Recientemente se han detectado nuevos focos de infección en el distrito de Santa Fe, al Norte de la provincia de Veraguas y también en los distritos de Chepo y Chiriquí en la región Este de la provincia de Panama (Calzada *et al* , 2010, Saldaña *et al* , 2012).

*Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* infectan órganos y tejidos internos del ser humano y son encontrados muchas veces co-infectando a la misma persona. Sin embargo solo *T. cruzi* es considerado patógeno. Ambas especies de *Trypanosoma* son endémicas del Neotrópico y co-ocurren en Panama (Sousa y Johnson 1971, Saldaña *et al* 1995). La transmisión de *T. cruzi* ocurre por el contacto de las personas con las heces de algunos chinches de la Subfamilia Triatominae. Durante la ingesta de sangre los chinches defecan y depositan los parásitos junto con las heces cerca del área de la picada.



## Seroprevalencia de la Infección Chagásica en Panamá

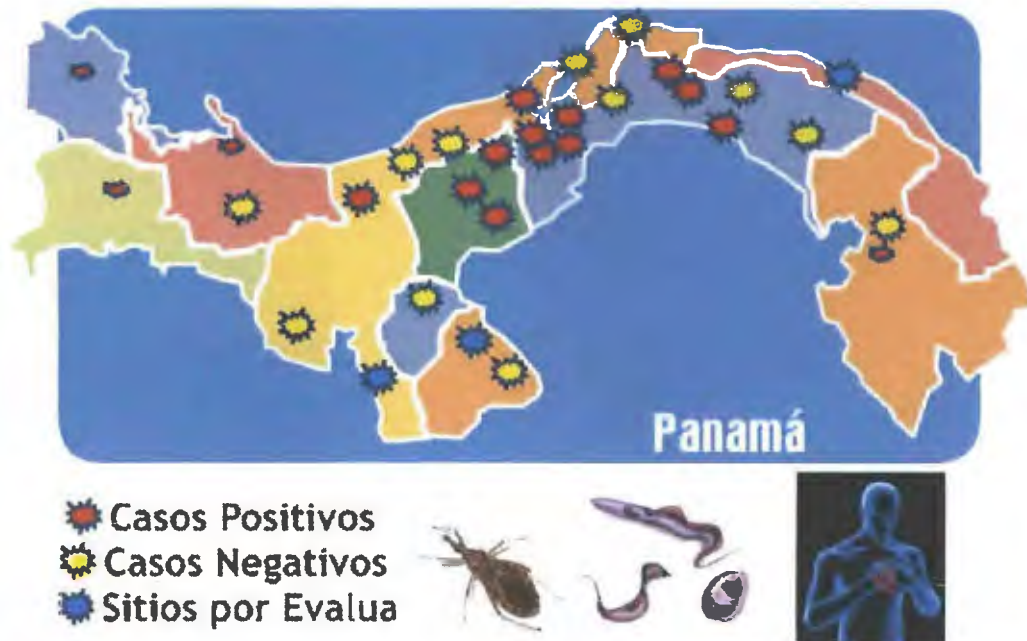


Fig. 4 Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en Panamá.  
Fuente: Departamento de Investigación en Parasitología, ICGES

Posteriormente, las personas afectadas tienden a rascarse arrastrando los parásitos hacia la herida, facilitando así la penetración de los tejidos profundos del cuerpo (Dumonteil, 1999) (Fig.5). A diferencia de *T. cruzi*, *T. rangeli* es transmitido durante la ingesta de sangre a través de la saliva del chinche (Pifano y Mayer, 1949; Johnson, 1960). En Panamá la infección causada por *T. rangeli* fue diagnosticada por primera vez en 1957, es de tipo asintomática y de baja patogenicidad en comparación a la infección por *T. cruzi* (Johnson, 1960). *Trypanosoma rangeli* se encuentra en la naturaleza infectando el tracto

digestivo, la hemolinfa y las glándulas salivares de *Rhodnius pallescens*, pero no infecta los tejidos de otros chinches como *T. dimidiata* y *R. prolixus* (Sousa, 1972).

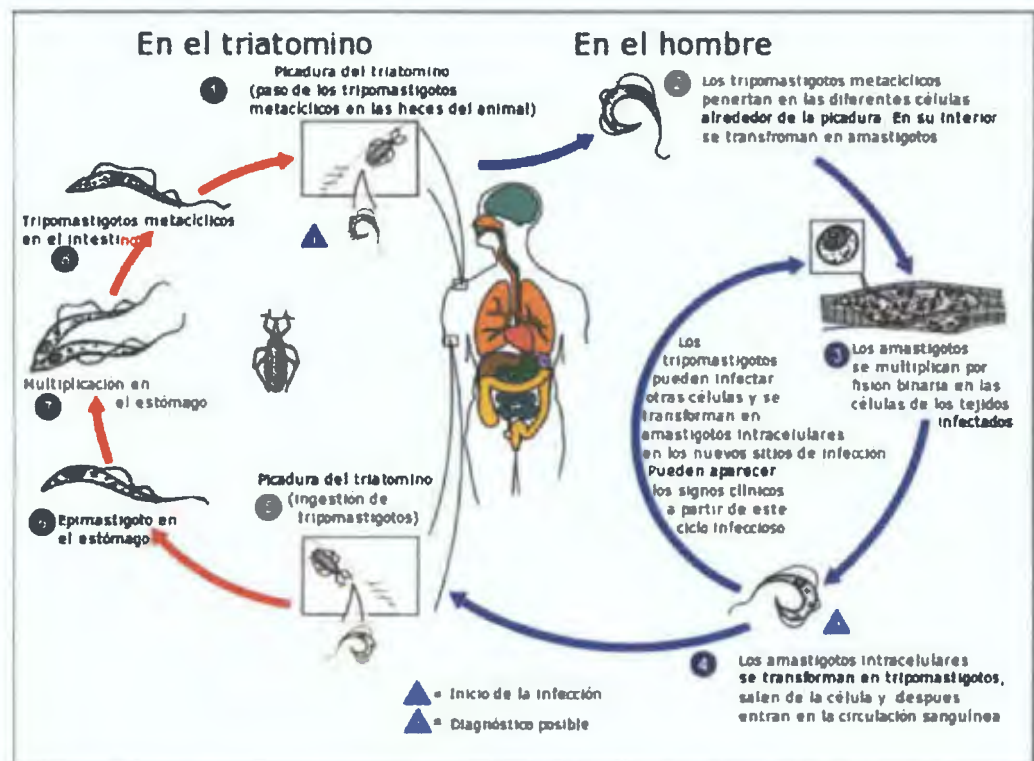


Fig. 5 Ciclo de transmisión de *T. cruzi*.  
Fuente: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>

Esto sugiere un elevado grado de especificidad de la cepa de *T. rangeli* presente en Panamá por *R. pallescens* (Gorgas Memorial Laboratory, 1966).

Los investigadores Sousa y Johnson (1971), basándose en exámenes microscópicos, reportaron una elevada prevalencia de *T. cruzi* y *T. rangeli* en el área central del país, incluyendo las provincias de Panamá, Coclé y Colón. Sin embargo, *T. rangeli* resultó seis veces más prevalente que *T. cruzi*. Sousa (1972) concluyó que la elevada tasa de infección con *T. rangeli* en estas áreas demuestra un contacto constante entre las personas

y *R. pallescens*, ya que esta especie de chinche es la única capaz de transmitir este parásito en Panamá. Sin embargo, *R. pallescens* es infectado con mayor frecuencia por *T. cruzi* que por *T. rangeli*, lo que sugiere un mayor riesgo de infección para quienes sean picados por esta especie de chinche (Sousa y Johnson 1973, Vasquez *et al.* 1997). La mayor prevalencia de *T. rangeli* en humanos podría deberse a un mecanismo de transmisión más eficiente en comparación con el mecanismo de transmisión por contaminación fecal de *T. cruzi*. Sin embargo, algunos estudios sugieren que la mayor prevalencia de *T. rangeli* se debe probablemente a que la exposición inicial a *T. rangeli* genera una respuesta humoral y celular, que confiere protección contra una exposición subsecuente a *T. cruzi* (Sousa y Johnson, 1971, Zuñiga *et al.*, 1997, Palau *et al.*, 2003, Basso *et al.*, 2004, Saldaña *et al.*, 2005).

#### 1.4 Animales reservorios

El Mal de Chagas es una zoonosis tropical que involucra un número considerable de especies de animales reservorios y hospederos (Whitlaw y Chaniotis, 1978). En 1972 Octavio Sousa, publicó una lista de 26 especies de mamíferos infectadas naturalmente con *T. cruzi* y con otras especies de *Trypanosoma* en Panamá. Específicamente *T. cruzi* ha sido detectado en seis especies de roedores, cinco de quirópteros, cuatro de primates y tres de marsupiales, edentados y carnívoros, respectivamente. Por su parte, *T. rangeli* ha sido identificado en 15 especies de mamíferos salvajes. La zorra común *D. marsupialis*, fue considerada el reservorio selvático más importante y con frecuencia era encontrada

infectada simultáneamente con *T. cruzi* y *T. rangeli* (Clark y Dunn, 1932; Whitlaw y Chaniotis, 1978) (Fig.6). Entre los roedores, la rata doméstica (*Rattus rattus*), fue considerada el reservorio más importante en el entorno peridoméstico (Edgcomb *et al.*, 1973). En cambio, la rata espinosa (*Proechymis semispinosus*), ha sido un reservorio importante en el ciclo selvático de transmisión de estos parásitos (Whitlaw y Chaniotis, 1978).



**Fig. 6 *Didelphis marsupialis*. Considerada el principal reservorio silvestre de *T. cruzi*.**  
Fuente: [http://labs.icb.ufmg.br/lhem/ddb/mammalia/didelphis\\_marsupialis.html](http://labs.icb.ufmg.br/lhem/ddb/mammalia/didelphis_marsupialis.html)

Otros reservorios silvestres de *T. cruzi* son el armadillo (*Dasypus novemcinctus*), el oso hormiguero (*Tamandua tetradactyla*), el perezoso de tres garras (*Bradypus infuscatus*) y la especie de murciélago *Artibeus jamaicensis* (Clark y Dunn, 1932; Pipkin, 1968; Walton y Sousa, 1976; Whitlaw y Chaniotis, 1978). Sousa y Dawson (1976) determinaron que los monos tití (*Saguinus geoffroyi*) también son reservorios naturales de *T. cruzi* y *T. rangeli* en Panamá, lo que podría suponer un riesgo mayor para las personas que adoptan estos animales como mascotas. La elevada prevalencia de *T. rangeli* en esta especie de

monos sugiere una estrecha relacion con *R. pallescens*. En Panama es conocido que los monos titi se movilizan desde las areas selvaticas hasta las casas atraidos por los arboles frutales (Sousa y Dawson 1976). Un modo excepcional de transmision de *T. cruzi* y *T. rangeli*, entre monos titi podria darse debido a la ingesta masiva de chinches triatominos durante la epoca lluviosa (Sousa *et al* , 1974, Sousa y Dawson, 1976).

Por otro lado, las aves en general, incluyendo las domesticas como las gallinas son consideradas refractarias a la infeccion por *T. cruzi*. Lo cual sugiere que estas podrian constituirse en un tipo de hospedero final en comunidades endemicas del pais, y que podrian ser utilizadas para fines de control biologico (Hurtado *et al* , 2014). Cecere *et al* (1997) sugieren que la exclusion de las gallinas de las areas peri-domiciliarias, pudiese aumentar la tasa de infeccion de *T. cruzi* en humanos. Por otro lado, los resultados de un estudio reciente indican que los perros en areas rurales de la region central de Panama estan infectados regularmente con *T. cruzi*, presentando valores de prevalencia de hasta 11.1%, sugiriendo que el perro desempeña un papel importante como reservorio en el ciclo de transmision del Mal de Chagas en Panamá (Calzada *et al* , 2011).

## **1.5 Chinches triatominos**

### **1.5.1 Vectores de *T. cruzi* y *T. rangeli***

En los años treinta del siglo pasado se identificaron las especies vectores del Mal de Chagas en Panama. Estos insectos pertenecen a varios generos dentro la Subfamilia *Triatominae*, y son conocidos comunmente como chinches mamones o chinches de monte.

(Méndez y Sousa, 1979; Méndez *et al.*, 1997). Las especies de triatominos reportadas naturalmente infectadas y capaces de transmitir *T. cruzi* en Panamá son *T. geniculata* (Clark y Dunn, 1932), *R. pallescens* (Dunn, 1933), *E. cuspidatus* (Dunn, 1934) y *T. dimidiata* (Rozeboom, 1936) (Fig.7). Clark y Dunn (1932) hacen referencia a *R. prolixus* como uno de los principales vectores del Mal de Chagas en Panamá. Sin embargo, no existen reportes confirmados de la ocurrencia de esta especie en el país (Sousa, 1972; Hashimoto y Schofield, 2012). *Triatoma dispar*, un quinto vector naturalmente infectado

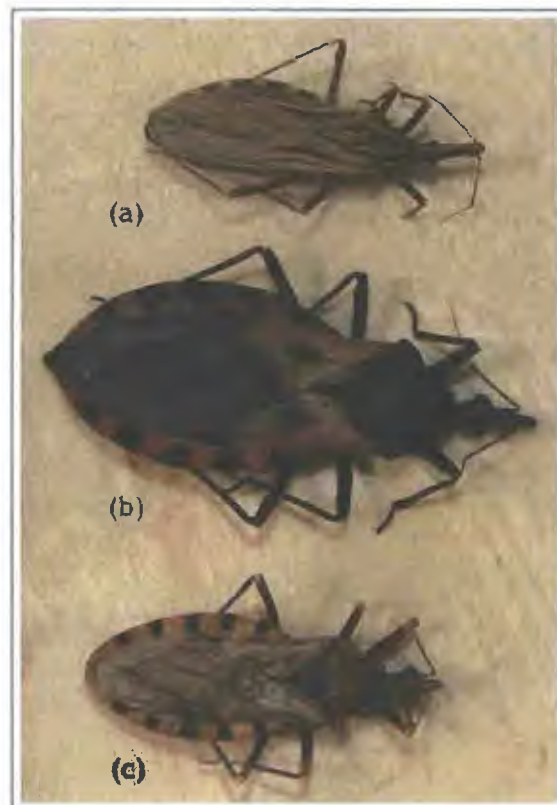


Fig. 7 Principales vectores de *T. cruzi* en Panamá.  
(a) *Rhodnius pallescens* (b) *Triatoma dimidiata* (c) *Panstrongylus geniculatus*.  
Fuente: Departamento de Investigación en Parasitología, ICGES

con *T. cruzi* fue descubierto en 1962 por Galindo y Fairchild. Esta especie fue encontrada infectada naturalmente con *T. cruzi* por Sousa y Galindo en 1972 y se asocia principalmente a habitats arboreos (Galindo y Fairchild, 1962) y habia sido descrita erroneamente por Champion (1899) y Usinger (1944) como *T. venosa*. Las especies *Panstrongylus geniculatus*, *P. humeralis* y *P. rufotuberculatus* estan asociadas tambien con la transmision de *T. cruzi* en Panama, sin embargo estas especies son selvaticas y se encuentran en cuevas de animales, nidos subterraneos y huecos de arboles, alejadas de los asentamientos humanos (Sousa, 1972, Sousa y Adames 1977). La especie *Cavernicola pilosa* es tambien vector de *T. cruzi*, sin embargo esta se encuentra asociada a cuevas de murcielagos (Sousa, 1972).

#### 1.5.2 Potencial vectorial de *Rhodnius pallescens* y *Triatoma dimidiata*

Actualmente, *R. pallescens* y *T. dimidiata* son considerados los principales vectores de *T. cruzi* en Panama, y el primero es el unico vector conocido de *T. rangeli* (Pipkin, 1968, Sousa, 1972, Sousa y Johnson, 1973, Christensen y De Vasquez, 1981, Christensen *et al* 1988, Calzada *et al*, 2006). *Rhodnius pallescens* se distribuye ampliamente desde la region oriental del pais en la Provincia de Darien hasta la frontera con Costa Rica en la Provincia de Bocas del Toro. Los estudios realizados a la fecha sugieren que esta especie domina ligeramente sobre otras en la parte central y oriental de Panama, mientras que *T. dimidiata* es encontrado comunmente en las provincias de Bocas del Toro, Chiriqui, y Veraguas, dominando aparentemente en la region occidental del pais. No obstante, es



necesario mencionar que no existen a la fecha en Panama estudios exhaustivos y sistematicos sobre la distribucion de estas y otras especies de chinches (Sousa y Johnson 1971, Sousa, 1972)

Pipkin (1968) señala que factores como el habitat, el grado de afinidad por las viviendas el rango de hospederos y la tasa de infeccion con *T cruzi* determinan el rol de transmision local de las distintas especies de chinches triatominos. En Panama *R. pallens* se encuentra estrechamente asociado con la palma *Attalea butyraceae* (Whitlaw y Chaniotis 1978). Esta palma es prevalente en gran parte del territorio nacional, encontrandose tanto en bosques primarios como secundarios, así como también en ecosistemas de potreros y tierras destinadas a la agricultura y explotacion pecuaria (Christensen y De Vasquez, 1981). *Attalea butyraceae*, se desarrolla con facilidad en habitats alterados por actividades humanas, y en ocasiones a pocos metros de las viviendas. Su fisionomia reúne las condiciones apropiadas de humedad, temperatura y disponibilidad de alimento para el desarrollo de *R. pallens*. Además estas palmas son utilizadas como sitio de refugio por la zarigueya y otros mamíferos considerados reservorios importantes para *T. cruzi*. Debido a esto, la presencia de *A. butyraceae* cerca de las viviendas es considerado un factor elevado de riesgo para la transmision de Chagas. Esto debido a que estudios recientes sugieren que individuos de *R. pallens* pueden volar muchos metros desde las palmas hasta las casas atraídos por la luz (Saldaña *et al.* 2008).

Pipkin (1968) determinó que la abundancia de *R. pallens* dentro de las viviendas en comunidades endémicas en el área central de Panama, superaba la abundancia de las



demás especies de triatominos. Además, encuentro ninfas de *R. pallescens* dentro de las casas demostrando que pueden adaptarse al domicilio y alimentarse de humanos. Sin embargo, estudios posteriores arrojaron resultados contradictorios, ya que en algunas áreas de Panamá, *R. pallescens* fue colectado dentro de las viviendas, mientras que en otras se colectó fuera de las casas en palmas del peridomicilio (Calzada *et al* 2006). Las diferencias encontradas en estos estudios sobre el grado de domiciliación de *R. pallescens* podrían deberse a diferencias ecológicas, demográficas y socio económicas entre los sitios de colecta. Por ejemplo, la condición de la vivienda es elemental para la colonización y adaptación de *R. pallescens*, siendo las más vulnerables aquellas construidas con paredes de barro y techos de pencas de palma. Igualmente, aquellas viviendas rodeadas de palmas y con animales domésticos presentan mejor condición para los chinches de esta especie.

Estudios iniciales sobre el rango de hospederos en triatominos panameños determinaron que *R. pallescens* se alimenta principalmente de zarigüeyas (*D. marsupialis*) y humanos, pero también puede alimentarse de roedores, caninos, felinos, monos, reptiles, aves silvestres y domésticas (Christensen y De Vasquez 1981, Calzada *et al* , 2006, Saldaña *et al* , 2008). Gottdenker y colaboradores (2012) determinaron que la composición de especies de animales vertebrados que sirve de alimento a *R. pallescens* varía en función del grado de alteración del hábitat, siendo el perezoso de dos garras (*Choleopus hoffmanni*) el principal hospedero en bosques secundarios. Mientras que en sitios alterados cercanos a las viviendas humanas, la zarigüeya común (*D. marsupialis*) es el

principal hospedero. A pesar de ser considerado como una especie selvática por algunos autores, el comportamiento oportunista de *R. pallescens* demuestra el elevado grado de adaptación ecológica a distintas condiciones del hábitat incluyendo las áreas peridomésticas en donde los humanos constituyen su principal fuente de alimento.

Contrario a *R. pallescens*, *T. dimidiata* no se ha encontrado comúnmente asociado a especies de palmas en Panamá, incluyendo *A. butyraceae*. A pesar de ser considerada una especie domiciliar en otros países de Centro América, *T. dimidiata* no ha sido encontrada con frecuencia dentro de las viviendas en Panamá. *T. dimidiata capitata*, la especie del complejo *Dimidiata* presente en el país, parece estar más asociada con comunidades humanas ubicadas en áreas semi-boscosas y en ambientes selváticos (Sousa, 1972, Jurberg *et al* 2005). Christensen *et al* (1988) determinaron en la provincia de Chiriquí que *T. dimidiata* se alimenta principalmente de humanos, gallinas y perros. Además, *T. dimidiata* no parece alimentarse comúnmente de la zarigueya, pero algunos autores consideran que este hallazgo es inusual y lo atribuyen a una baja especificidad de la prueba de precipitina empleada en este estudio (Saldaña *et al* , 2008). Aunque los trabajos de rango hospedero realizados en Panamá han brindado una idea general de los animales que sirven de alimento a *R. pallescens* y *T. dimidiata*, está claro que ambas especies son oportunistas y tomarán sangre de aquellos animales que existan en mayor proporción en los sitios de estudio.

Sousa y Johnson (1973) reportaron una tasa de infección por *T. cruzi* en triatominos colectados en distintas regiones de Panamá que oscilaba entre 3.1% y 21.5%. Vázquez *et*

*al* (2004) utilizando microscopia reportaron tasas de infeccion de *T cruzi* y *T rangeli* en *R. pallescens* del Este de Panama de 85.4% y 14.6%, respectivamente. Calzada *et al* (2006) utilizando tecnicas moleculares reportaron tasas de infeccion de *T cruzi* y *T rangeli* de 72.7% y 40% respectivamente, en *R. pallescens* del area Oeste de la Provincia de Panama. Los resultados con tecnicas moleculares son superiores a los obtenidos mediante el examen microscopico directo en donde solo se detecto *Trypanosoma* en un 27.3% de los especimenes. Por otro lado, la tasa de infeccion de *T dimidiata* en estudios realizados en Panama es mucho mas baja y oscila entre 13.5% a 17.7% (Sousa y Johnson, 1973). Gottdenker *et al* (2011, 2012) determinaron que la tasa de infeccion de *R. pallescens* por *T cruzi* esta influenciada por diversos factores, entre ellos, el grado de alteracion del habitat el cual a su vez, determina las especies animales hospederos dominantes. Futuros estudios tendran que controlar el sesgo producto de la composicion de especies de hospederos en sitios de estudio con distintos grados de alteracion humana. *Rhodnius pallescens* y *T. dimidiata* son ambos vectores primarios de *T. cruzi* en Panama. No obstante, los estudios apuntan a que *R. pallescens* es mas importante en la transmision probablemente debido a su mayor grado de asociacion con especies de palmas que son utilizadas en actividades artesanales por las comunidades en areas rurales del pais (Pipkin 1968, Mendez y Sousa, 1979, Mendez *et al*, 1997). Los campesinos utilizan las hojas (pencas) de *A. butyraceae* para la construccion de los techos de casas y ranchos, lo cual contribuye a la diseminacion de ninfas y adultos, elevando la capacidad de dispersion y flujo genetico entre poblaciones geograficamente aisladas de *R.*

*pallescens* (Whitlaw y Chaniotis, 1978) *Triatoma dimidiata* por su parte es un vector primario de *T. cruzi* en entornos selváticos en presencia o ausencia de palmas y donde sus poblaciones alcanzan números considerables y las viviendas se encuentran en el interior o margen del bosque (Sousa y Johnson, 1973)

## 1.6 Estatus taxonómico

*Triatoma dimidiata* y *R. pallescens* se distribuyen extensamente a través del Neotrópico, pero el primero tiene una distribución geográfica ligeramente superior. Lo más probable es que *T. dimidiata* se originó en el Norte de América Central (e.g. México y Guatemala) y fue colonizando hacia el sur a través de América Central y el Norte de Sur América, mientras que *R. pallescens* se originó en Sur América (e.g. Colombia y Ecuador) y posteriormente colonizó hacia el Norte a través de Mesoamérica (Bargues *et al.*, 2008, Monteiro *et al.*, 2013, Díaz *et al.*, 2014). En el pasado, ambas especies experimentaron episodios de vicarianza y secundariamente mezcla, y enfrentaron considerable variabilidad ambiental a través de sus rangos al presente. Por lo tanto, presentan una variación fenotípica sustancial en el color, tamaño, comportamiento y varios niveles de divergencia molecular en los loci mitocondriales y nucleares (Arboleda *et al.*, 2009, Monteiro *et al.*, 2013, Díaz *et al.*, 2014, Gómez Palacio *et al.*, 2008). Varias líneas de evidencia apoyan la existencia de al menos tres taxa entre *T. dimidiata* (e.g. complejo de especies crípticas), incluyendo *T. dimidiata capitata*, el cual es encontrado en Panamá y Colombia. La divergencia molecular en *T. dimidiata* ha sido atribuida a una

ampliación en su rango geográfico seguido de una adaptación a las condiciones climáticas locales durante su colonización en Sur América (e.g., cambios climáticos del Pleistoceno) o a una degradación antropogénica del hábitat más reciente (Panzer *et al*, 2006, Bargues *et al* 2008, Monteiro *et al*, 2013)

De igual forma, *R. pallescens* presenta una significativa estructura poblacional a lo largo de Panamá, Colombia y Ecuador (Díaz *et al*, 2014). Se propuso que dos linajes moleculares y una especie simpátrica putativa '*R. colombiensis*' se produjeron entre el Norte de Sur América y Panamá. *Rhodnius pallescens* pudiera ser un complejo de dos linajes moleculares divergentes con diferentes atributos cromosómicos. Los valores de divergencia molecular entre los linajes I y II de *R. pallescens* fueron similares a los encontrados entre *R. colombiensis* y estos linajes, sugiriendo una relación filogenética muy cercana y quizás nichos ecológicos similares entre estos tres taxa hermanos (e.g., hábitat selvático).

La diversificación de *R. pallescens* (e.g. linajes I y II) fue atribuida a la formación del Istmo de Panamá, y a la vicarianza y colonización subsecuente del grupo (Díaz *et al*, 2014). Estudios acerca de la estructura genética poblacional y el estatus taxonómico de *R. pallescens* s.s. y *T. dimidiata capitata* (e.g., presencia de otras unidades crípticas evolutivas) no han sido conducidos sistemáticamente en Panamá, a pesar de su potencial para informar acerca de cómo implementar estrategias genéticas de control vectorial.

## 1.7 Prevención y control

A pesar de la expansión en curso de la enfermedad de Chagas a través de áreas ecológicamente alteradas de Panamá, el Ministerio de Salud de nuestro país (i.e., MINSA) no considera esta infección una prioridad en términos de control, limitando los esfuerzos de mitigación para tratar numerosos casos detectados mayormente mediante vigilancia pasiva. Aunque este comportamiento negligente se debe probablemente al carácter epidemiológico enzootico y la naturaleza crónica de la enfermedad de Chagas (Telleria *et al* 2010) algunas investigaciones atribuyen esto a un grado significativo de subnotificación y a la conducta selvática de *R. pallescens* en Panamá (Vasquez *et al* , 2004, Calzada *et al* , 2006). Por ejemplo, las poblaciones panameñas de *R. pallescens* son altamente susceptibles a Deltametrina y Lambdaialotrina pero no es práctico implementar la atomización residual de piretroides para matar este vector, si no reside en interiores (Caceres *et al* , 2011). El programa de prevención y control de la enfermedad de Chagas en Panamá debe enfocarse en poner en acción un sistema de vigilancia activo para la detección precisa de casos. Este programa también debe incrementar la vigilancia epidemiológica en áreas inexploradas del campo para detectar nuevos focos de transmisión. Los trabajos recientes sobre la cardiopatía coronaria en Panamá han destacado la necesidad de implementar enfoques interdisciplinarios para prevenir la transmisión, teniendo en cuenta los cambios locales en los patrones de enfermedades debido a cambios antropogénicos y/o climáticos pero involucrando activamente a los miembros de la comunidad en acciones de mitigación (Telleria *et al* 2010). La

implementación de programas educativos dirigidos a comunidades vulnerables puede ayudar a minimizar el riesgo enseñando a la gente cómo mejorar la calidad de la vivienda utilizando materiales de construcción apropiados, ayudándoles así a reducir el contacto vector humano (Hurtado *et al* , 2014)

## 2 HIPOTESIS

Las especies del genero *Rhodnius* son consideradas habitantes especialistas de palmas. En Panama el principal vector de Chagas (*R. pallescens*) tiene como ecotopo natural la palma real *A. butyraceae*. Hasta la fecha no se han realizado estudios formales que evaluen la presencia y abundancia de vectores de Chagas en otras especies de palmas, así como los factores de riesgo que inciden en ello. Esto a pesar que en otras áreas del país abundan palmas de varias especies. Este es el caso de la región turística de Pedasi, donde es más abundante la palma *A. aculeata*, que guarda similitud fisonómica y estructural con la palma real. Si poblaciones de *R. pallescens* u otros vectores de Chagas, son capaces de establecerse en palmas de diferentes especies, localizadas en regiones distintas a las consideradas tradicionalmente como endémicas, entonces existe un riesgo inminente de transmisión de *T. cruzi* a las poblaciones cercanas a estas palmas, y por tanto de casos clínicos de la Enfermedad de Chagas en Panamá.



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Investigar la presencia y las características ecobiológicas de las poblaciones de *R pallescens* y otros posibles vectores de la enfermedad de Chagas en las palmas *A aculeata*, en el distrito de Pedasí provincia de Los Santos

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- (1) Determinar los indicadores de infestación, abundancia y colonización de *R pallescens* y otros posibles vectores de la enfermedad de Chagas en palmas *A aculeata* localizadas en dos ambientes con diferentes usos de tierra en esta región
- (2) Determinar la infección natural con tripanosomas en ejemplares de *R pallescens* y otros posibles vectores de la enfermedad de Chagas colectados en las palmas *A aculeata* de esta región
- (3) Describir y comparar las características fisionómicas de las palmas *A aculeata* evaluadas en dos ambientes con diferentes usos de tierra
- (4) Identificar factores de riesgo ecológicos y estructurales de las palmas *A aculeata* asociados con los indicadores entomológicos infestación, abundancia colonización y la infección natural con tripanosomas en las palmas ubicadas en dos ambientes con diferentes usos de tierra

## **4 MATERIALES Y METODOS**

### **4.1 Area de Estudio**

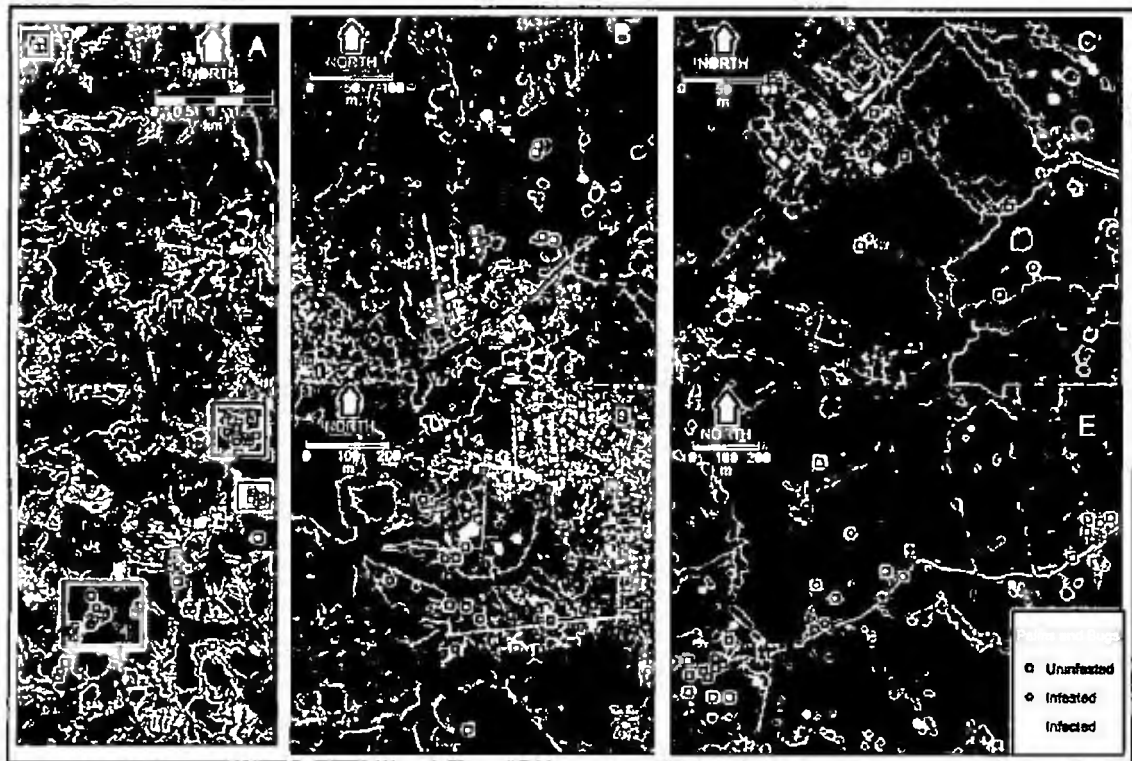
El estudio se desarrollo en el Distrito de Pedasi, Provincia de Los Santos Republica de Panama (Fig 8). El Distrito de Pedasi posee una superficie de 378,3 km<sup>2</sup> y una poblacion de 4 481 habitantes, de acuerdo con el censo de 2010. Anterior al periodo de la colonizacion española esta area estuvo constituida por bosque seco tropical el cual subsecuentemente fue deforestado debido al desarrollo de la agricultura y la ganaderia. Pedasi se encuentra dentro del Arco Seco de Panama, un area seca, con lluvias relativamente escasas en comparacion con el resto del Istmo (Autoridad Nacional del Ambiente, 2010). De acuerdo con la clasificacion climatica de Koppen, Pedasi presenta un Clima Tropical de Sabana, con una estacion lluviosa que se extiende desde mayo o inicios de junio hasta finales de noviembre, y una estacion seca que se desarrolla en los meses restantes (Autoridad Nacional del Ambiente, 2010). La temperatura promedio anual oscila entre los 25 a 27°C y la precipitacion pluvial anual promedio es de 1,354 mm (Autoridad Nacional del Ambiente, 2010). Las principales actividades economicas en el area son la ganaderia y mas recientemente, el turismo, mayormente para uso recreativo de las costas, pero ademas para el avistamiento de vida silvestre marina, principalmente tortugas durante su oviposicion, y ballenas.



Fig. 8 Área de estudio: Distrito de Pedasí, Provincia de Los Santos, República de Panamá.

#### 4.2 Muestreo de palmas

Los sitios de muestreo consistieron en cuatro áreas principales (Fig.9) y algunas palmas solitarias intercaladas en el área de estudio (Fig.9A). Para la realización de los muestreos se seleccionaron dos sitios diferentes; clasificados según el uso de tierra donde se ubicaban las palmas. Se muestrearon 44 palmas en ambientes peridomiciliares (i.e., las que se encontraban a menos de 100 m de la casa más cercana (Fig.9B), y 39 palmas que se encontraban en potreros asociadas a la cría de ganado (Fig.9C). En cada sitio se tomaron las coordenadas geográficas de todas las palmas empleando un dispositivo de GPS (*Global Positioning System*, GPSmap 60CSx, Garmin), y se seleccionaron de manera aleatoria un total de 83 palmas, 39 de potreros y 44 peridomésticas, procurando dentro de lo posible que las palmas muestreadas estuvieran solas en un radio de 50 m.



**Fig 9 Sitios de muestreo (A) Sitios de muestreo en potreros y areas domiciliars (B) Palmas peridomiciliars (C) Palmas de potrero**

### 4.3 Caracterización fisonómica de las palmas

A su vez, se aplicó una encuesta para coleccionar informacion de varias características ecobiológicas de cada palma *A. aculeata* (Fig 10a) incluida en el muestreo: tamaño de la palma, tipo de habitat alrededor (peridomestica o potrero), número de pencas (tomando en cuenta cuántas palmas estaban secas y cuántas estaban 'secas o muertas'), número de racimos o infrutescencias y número de vegetación epífitas (Anexo 1). También registramos la presencia de aves o nidos de aves, zarigueyas y otros mamíferos. Además, se registró si en el ambiente circundante de cada palma (hasta 100 m), había casas, perros, caballos o ganado.



Fig. 10 (a) Ejemplo de palma de corozo *Acrocomia aculeata* peridomiciliar muestreada en el Distrito de Pedasí. (b) Palma real (*A. butyraceae*)

#### 4.4 Colecta de triatominos

De mayo de 2015 a agosto de 2016, se realizaron cuatro colectas de chinches; dos durante la época seca (mayo de 2015 y abril de 2016) y dos durante la época lluviosa (julio y agosto de 2016). En cada palma se colocaron dos trampas cebadas con ratones (Abad-Franch *et al.*, 2005) (Fig.11). Cada trampa contenía comida de ratón para que estos se alimentaran durante las horas de muestreo. Las trampas se colocaron en la parte interna de la corona de las palmas, en lados opuestos, desde las 18:00 hasta las 06:00, con la

ayuda de una escalara de 6 m y una percha (Fig.12). Los chinches colectados se almacenaron en viales plásticos de 120 ml rotulados, con tiras de papel filtro para la fijación de los chinches. Los chinches colectados fueron identificados usando la clave de Tribus y Géneros y la clave de especies de *Rhodnius* de Lent y Wygodzinsky (1979). Con los datos de todas las colectas se conformó una base de datos que incluía la cantidad de chinches colectados, así como el sexo y estadio de los mismos para cada palma. Además, se incluyeron los datos de las encuestas realizadas a cada palma.



**Fig. 11 Trampas cebadas con ratones, colocadas en las coronas de las palmas para la captura de triatomíneos.**

#### 4.5 Infección de triatomíneos con *Trypanosoma* spp

Para determinar la infección por *T. cruzi* y *T. rangeli*, sólo se examinaron los adultos y las ninfas de 4to y 5to estadio que estuvieran vivos al momento de llegar al laboratorio. No se procesaron las ninfas de 1ero, 2do y 3er estadio debido a su reducida abundancia y a la dificultad técnica para extraer heces para examinarlas al microscopio. Iniciamos por la extracción de heces de los chinches realizando presión en el recto del chinche con un

capilar. El extracto se diluyó en solución salina y se observó en un microscopio óptico con un aumento total de 400X para la búsqueda de tripanosomas. Algunos triatomíneos fueron adicionalmente procesados usando el protocolo descrito por Calzada *et al* (2006). El ADN fue purificado con un kit comercial (Promega, Madison, WI, EE UU) y luego empleado para la detección específica y simultánea de *T. cruzi* y *T. rangeli* utilizando la PCR multiplex descrita Churillo *et al* (2003).





**Fig. 12 Colocación de trampas y realización de la encuesta en palmas durante las cuatro giras de colecta en el Distrito de Pedasi.**



#### **4.6 Aislamiento y caracterización de *T. cruzi***

Para aislar y caracterizar la cepa de *T. cruzi* circulante en el área de estudio, se seleccionaron algunos insectos con alto número de tripanosomas según lo observado en el análisis microscópico de las muestras fecales. Alrededor de 0.1 ml de heces diluidas en solución salina fueron inoculadas intraperitonealmente en ratones blancos susceptibles. Diariamente se monitoreó microscópicamente la parasitemia en los ratones. Al momento de observarse el pico de parasitemia, los ratones fueron sacrificados y una muestra de sangre se cultivó en medio bifásico Senekjies con 10% de suero fetal bovino. Los cultivos se examinaron semanalmente por al menos dos meses para determinar la presencia de tripanosomas. Los tripanosomas aislados se genotipificaron empleando un PCR multiplex basado en la amplificación del gen del mini exon (Fernandes *et al.* 2001). Los productos amplificados se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron en un fotodocumentador con luz ultravioleta. Todos los procedimientos de laboratorio se llevaron a cabo empleando los manuales de procedimiento estándares que se usan rutinariamente en el Departamento de Parasitología del ICGES.

#### **4.7 Consideraciones éticas**

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a los procedimientos operacionales estándares empleados en el Departamento de Parasitología del ICGES. El uso de las

trampas con cebo de ratones fue evaluado y aprobado por el Comité Institucional para el Buen Uso y Cuidado de Animales de Laboratorio (CIUCAL ICGES, 2015 01)

#### **4.8 Análisis estadísticos**

##### **4.8.1 Análisis descriptivos**

Los datos entomológicos y ecológicos fueron tabulados empleando el programa Microsoft Excel (Microsoft Inc., United States). Las variables normalmente distribuidas se presentan como la media con su desviación estándar, mientras que las variables con distribución discreta se expresan con la mediana y el rango intercuartil. Las variables binarias y categóricas se presentan con frecuencias y proporciones. Para los análisis descriptivos se empleó el programa JMP pro13.0 (SAS Institute Inc, USA) para Windows. No se realizaron análisis bivariados para investigar las posibles asociaciones entre variables, previo a los análisis de regresión. Para evaluar el riesgo de la transmisión de la Enfermedad de Chagas se calcularon los siguientes índices entomológicos (World Health Organization (2003))

(a) Palmas infestadas  $\text{N}^\circ$  de palmas con triatominos

(b) Índice de infestación  $\text{N}^\circ$  de palmas con triatominos /  $\text{N}^\circ$  de palmas muestreadas

(c) Densidad  $\text{N}^\circ$  de triatominos /  $\text{N}^\circ$  de palmas muestreadas

(d) Abundancia  $\text{N}^\circ$  de triatominos /  $\text{N}^\circ$  de palmas infestadas

(e) Índice de colonización  $\text{N}^\circ$  palmas con ninfas /  $\text{N}^\circ$  palmas con triatominos

#### 4.8.2 Análisis espacial de las palmas

Para detectar cualquier diferencia potencial entre el arreglo espacial de las palmas peridomiciliares (Fig. 9D) y las de poteros (Fig. 9E), se analizaron los patrones de los puntos de ubicación de las palmas en las dos áreas principales donde las palmas fueron muestreadas. Para el análisis se empleó la función  $L$ , un método de distancia usado para probar si un patrón de puntos es aleatorio, tal como se deduce de las distancias observadas entre puntos en un área poligonal definida (Diggle, 2013). La función  $L$  para una distancia dada  $r$ , es una transformación de la función  $K$  de Ripley (Baddeley y Turner, 2006)

$$(1) L(r) = \sqrt{K(r) \pi}$$

Donde  $K$  es esperada bajo un proceso homogéneo de Poisson, a ser

$$(2) K_{theo}(r) = \pi r^2$$

Siendo así  $L$  bajo un proceso homogéneo de Poisson se, sustituyendo (2) en (1), una línea recta,

$$(3) L_{theo}(r) = r$$

Por inferencia, una función estimada por encima de la recta definida en la ecuación (3) sugieren un patrón de agrupamiento y uno debajo de la línea recta un patrón regular siendo la hipótesis nula que los puntos se distribuyen aleatoriamente sobre el área estudiada (Baddeley, 2008). También se eligió la función  $L$ , bajo la  $K$  de Ripley, debido a la estabilización de la varianza que emerge de la transformación de raíz cuadrada en  $L$ .

presentada en la ecuación (1) (Baddeley 2008) Se estimó  $L$  empleando la siguiente fórmula

$$(4) L = \sqrt{1/\lambda^2 \text{area}(W) \pi \sum_{i \neq j} \sum \{ |x_i - x_j| \leq r \} e(x_i - x_j, r)}$$

Donde  $W$  es el área del polígono bajo estudio  $\lambda$  la intensidad del punto en el polígono y la función  $e(\cdot)$  corrección del efecto borde' (Baddeley 2008) Se empleó el paquete Spatstat en el programa estadístico R para estimar la función  $L$ , empleando la corrección de borde' (Baddeley y Turner, 2005) Para hacer inferencias sobre  $L$ , se estimó una prueba 'Global Envelope', (bandas críticas simultáneas), utilizando la desviación máxima de la función de Poisson  $L$  esperada La desviación máxima es estimada mediante un número  $m$  de simulaciones de un proceso de punto homogéneo con el parámetro  $\lambda$  (Baddeley, 2008) Para el análisis establecimos  $m=39$ , para encontrar bandas donde la probabilidad de que un estimado  $L$  cayera fuera de las bandas es exactamente 5% (2.5% por estar por encima o por debajo) bajo la hipótesis nula que los puntos (en este estudio las palmas) estaban distribuidas aleatoriamente

### **4.8.3 Análisis multivariantes**

#### **4.8.3.1 Infestación de palmas por triatominos**

Para analizar la importancia de diferentes factores ambientales en la infestación de palmas por triatominos, se emplearon análisis de regresión logística Para ello se

considero infestacion definida como la simple presencia de cualquier estadio de triatominos en la palma, como el resultado primario outcome (Venables y Ripley, 2002) Realizamos tres analisis de infestacion usando regresiones logisticas En primer lugar, consideramos la infestacion por triatominos en cualquier estadio, i.e., incluyendo ninfas y adultos Posteriormente realizamos un analisis similar exclusivamente para ninfas, y luego uno solo para adultos Para la abundancia de las ninfas de 4to y 5to estadio asi como tambien adultos, usamos modelos lineales generalizados de Poisson Todos los modelos incluyeron como covariables la temporada de muestreo (seca o lluviosa), uso de tierra (peridomicilio o potrero), altura de la palma numero de pencas secas/muertas numero de pencas verdes numero de racimos, presencia de plantas epifitas, presencia de aves (si o no), presencia de mamiferos en las palmas o cercanas a ellas incluyendo las siguientes categorias no mamiferos zarigueyas, perros caballos y ganado

#### **4.8.3.2 Infeccion de triatominos con *Trypanosoma* spp**

Se emplearon modelos lineales generalizados de Poisson para estudiar las tasas de infeccion por *T. cruzi* y *T. rangeli* en el subconjunto de palmas infestadas con chinches En estos modelos la variable de respuesta fue el numero de chinches infectados Las covariables incluyeron una variable de exposicion (offset) con el logaritmo del numero total de triatominos colectados en la palma, el numero de casas presentes en un radio de

10, 50 y 100 m de cada palma focal, además del grupo de covariables usadas en el análisis de infestación

#### **4.8.3.3 Selección de variables**

En ambos modelos de infestación e infección seleccionamos a las covariables usando un proceso de eliminación progresiva (Kuhn y Johnson, 2013). Brevemente en la eliminación progresiva se construye un modelo completo que incluye todas las covariables para luego simplificar el modelo de forma escalonada dejando fuera una covariable a la vez y comparando el AIC (Akaike Information Criterion, un métrico que ayuda a seleccionar modelos mediante la reducción del equilibrio entre el número de parámetros y el ajuste del modelo) del conjunto resultante de modelos con un número igual de parámetros. En cada paso se selecciona el modelo que reduce el AIC. El proceso se repite hasta que no haya disminución adicional en los valores de AIC. Una vez seleccionado el modelo con valor AIC mínimo este se simplificaba adicionalmente, si al eliminar una covariable no significativa ( $P > 0.05$ ) no se aumentaba el AIC por más de dos unidades, ya que el modelo más simple no sería significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) del modelo con la covariable adicional (Faraway, 2004).

#### **4.8.3.4 Manejo del problema de la separación perfecta en regresión logística**

En este estudio los triatominos adultos solo se colectaron durante la estación lluviosa. Esto ocasiona una separación casi perfecta en los modelos, ya que sin la necesidad de un

modelo, los datos indican que en la estación seca los chinches adultos no fueron observados en las palmas, y que estos tenían más probabilidades de estar presentes durante la época lluviosa. Sin embargo, esta separación hace que la estimación del parámetro no sea fiable con un modelo lineal generalizado dado que el error para las estimaciones de parámetros estaría sobrevalorado tendiendo al infinito (Albert y Anderson 1984). Para resolver este problema, estimamos parámetros para los mejores modelos de regresión logística y de Poisson para adultos, los cuales incluyeron a la temporada de muestreo como un predictor significativo usando modelos lineales generalizados con penalización (Friedman *et al*, 2010). Específicamente se empleó una regresión elastic net y escogimos el parámetro de penalización ( $\lambda$ ), usando validación cruzada y escogimos un valor que minimiza la desviación entre nuestras observaciones y el modelo ajustado (Kuhn y Johnson, 2013). Uno de los inconvenientes de este método, es que los errores estándar, y subsecuentemente los intervalos de confianza, no pueden ser estimados debido al sesgo introducido por el parámetro de penalización (Faraway, 2004, Friedman *et al*, 2010). Así para inferir acerca de las estimaciones de parámetros empleamos pruebas de razón de verosimilitud (likelihood ratio) entre el mejor modelo, y los modelos en los que las covariables fueron eliminadas (Faraway, 2006).

#### **4.8.3.5 Suposición de independencia espacial de los modelos lineales generalizados**

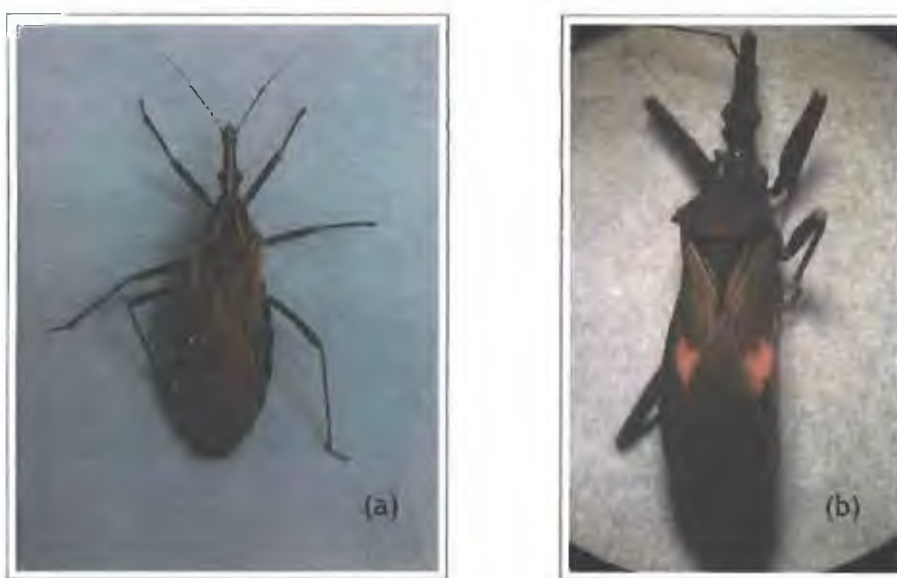
Dada la naturaleza espacial de nuestros datos y la necesidad de cumplir los supuestos de independencia de error para una inferencia estadística sólida (Brunsdon y Comber 2015), probamos la hipótesis de independencia espacial en la regresión mediante la estimación del índice global de Moran I para los residuos de todos los modelos seleccionados como mejores. Consideramos una distancia máxima entre palmas vecinas de 600 m cuando se calculaba la matriz de pesos espaciales utilizada para la estimación del Índice de Moran (Brunsdon y Comber 2015), ya que 600 m fue la distancia máxima a la palma más cercana registrada en nuestro estudio. Bajo un argumento similar, la distancia máxima se elevó a 720 m para los residuos del modelo que estudia la infección de los triatominos que solo consideraba las palmas infestadas con chinches.



## 5 RESULTADOS

La tabla N°1 resume los resultados generales y las estadísticas descriptivas del estudio. Se evaluaron 83 palmas adultas de la especie *A. aculeata* de las cuáles 19 (23%) estaban infestadas con chinches triatomíneos considerados potenciales vectores de *T. cruzi*, correspondiendo nueve al área peridoméstico y diez al área de potrero. En el total de las palmas muestreadas se capturaron 62 triatomíneos de la especie *R. pallens* (Fig 13a). Esta especie es considerada el principal vector de la enfermedad de Chagas en Panamá (Calzada *et al* 2006). También colectamos una ninfa de 3er estadio de *E. cuspidatus* (Fig 13b), una especie selvática también vector potencial de *T. cruzi* en nuestro país (Mendez y Sousa 1979). De estos chinches, 26 fueron capturados en palmas peridomésticas y 37 en palmas de potrero. Con respecto al estadio de los chinches obtuvimos 14 adultos, y 49 ninfas (4 ninfas de 1er estadio, 18 ninfas de 2do estadio, 9 ninfas de 3er estadio, 10 de 4to estadio y 8 de 5to estadio). En ambos hábitats, la frecuencia de ninfas fue mayor que la de adultos. Sin embargo la razón ninfa/adulto fue superior en las palmas peridomésticas (5.5 vs 2.7). Los indicadores entomológicos calculados (infestación, colonización, densidad y abundancia) indican que el área de estudio presenta condiciones propicias para la transmisión selvática de la enfermedad (Tabla N°1). En general, estos índices fueron similares en ambos tipos de palmas, aunque la densidad (N° de triatomíneos / N° de palmas muestreadas) fue superior en las palmas de potreros (0.59 vs 0.95).

En cuanto a las características de las palmas muestreadas en ambos hábitats, se encontró que la altura promedio total fue de  $6.46 \text{ m} \pm 2.01$ . Se observó una mediana 25 pencas verdes y 25 pencas secas por palma muestreada y el número promedio de racimos fue de siete. Alrededor del 80% de las palmas muestreadas se encontraban en contacto con plantas epífitas.



**Fig. 13** Triatominos colectados en el Distrito de Pedasí: (a) *R. pallens* (b) *E. cuspidatus*

Se observaron aves o sus nidos en solo tres palmas muestreadas, y se observaron mamíferos cercanos o durante el muestreo en 21.3% (17/80) de las palmas evaluadas. Los mamíferos observados se distribuyeron de la siguiente manera: 1 perro (en palmas peridomésticas) 2 zarigüeyas (en palmas peridomésticas), 5 caballos (en palmas de potreros) y 9 vacas (en palmas de potreros).

**Tabla N°1 Resultados generales y las estadísticas descriptivas del estudio**

<b>Variables Entomológicas</b>	<b>Peridomésticas</b>	<b>Potreros</b>	<b>Total</b>
Palmas muestreadas	44	39	83
Palmas infestadas <sup>a</sup>	9	10	19
Indice de Infestacion (%) <sup>b</sup>	20.4	25.6	22.9
Numero de triatomíneos capturados	26	37	63
Adultos capturados	4	10	14
Ninfas capturadas	22	27	49
Razon ninfá adulto	5.5	2.7	3.5
Densidad <sup>c</sup>	0.59	0.95	0.76
Abundancia <sup>d</sup>	2.9	3.7	3.3
Indice de colonizacion <sup>e</sup>	88.9	90	89.4
<b>Variables Ecológicas</b>			
Altura de palmas (M ± SD)	6.27 ± 1.74	6.66 ± 2.28	6.46 ± 2.01
Pencas verdes (Me ± IQR)	23 (19-32)	27 (19-33)	25 (19-30)
Pencas secas (Me ± IQR)	23.5 (15-34)	30 (20-38)	25 (17-36)
Racimos (Me ± IQR)	6 (4-9)	8 (5-12)	7 (4-10)
Presencia de Epifitas	72.1	86.4	78.8

M promedio Me Mediana SD Desviacion estandar IQR Rango intercuartil

a Palmas infestadas N° de palmas con triatomíneos

b Indice de infestacion N° de palmas con triatomíneos / N° de palmas muestreadas

c Densidad N° de triatomíneos / N° de palmas muestreadas

d Abundancia N° de triatomíneos / N° de palmas infestadas

e Indice de colonizacion N° palmas con ninfas / N° palmas con triatomíneos

### **5.1 Infección de chinches con *Trypanosoma* spp**

Para evaluar la infección por *Trypanosoma* spp se procesaron y analizaron 30 chinches por microscopia (14 adultos, 8 ninfas de 5to estadio, 7 ninfas de 4to estadio y 1 ninfa de 3er estadio). De estos, 20 resultaron positivos, alcanzando un índice de infección natural con tripanosomas de 67%. Mediante las pruebas moleculares realizadas se pudo detectar la presencia de chinches infectados tanto con *T. cruzi* como con *T. rangeli* (Fig 14)

### **5.2 Aislamiento y caracterización de la cepa de *T. cruzi***

Se logró aislar el parásito *T. cruzi* en tres chinches infectados. Los estudios moleculares determinaron que el parásito pertenecía al linaje TCI que corresponde al linaje reportado previamente en Panamá y el de mayor distribución en Mesoamérica (Fig 14)



**Fig 14 Electroforesis de los productos amplificados mediante PCR multiplex basado en la amplificación del gen del mini exon (Fernandes *et al* , 2001)**  
**I M Molecular (100pb), II CNper (Negativo), III *T cruzi* 1551A linaje 1 (Exceso de ADN), IV *T cruzi P geniculatus* (Exceso de ADN), V CD control positivo Linaje1 (Positivo), VI *T cruzi* linaje 2 (Positivo), VII CFW R p (Positivo) VIII CFW R p (Positivo)**

### **5.3 Patrón espacial de las palmas**

La figura 15 muestra la función  $L$  esperada y ajustada para el polígono de área peridomiliar. El patrón indica que la distribución espacial de las palmas en esta área fue aleatoria, ya que no fue significativamente diferente de lo que se espera en un proceso aleatorio Poisson espacial homogéneo. Esto significa que las palmas no están agrupadas ni distribuidas uniformemente. Este patrón contrasta con el observado para el polígono del área de potrero (Fig 16) donde las palmas se agruparon a una distancia de alrededor de 100 m, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ). En general, el análisis de la función  $L$  sugirió que las palmas tenían diferentes patrones de disposición espacial según el tipo de uso de la tierra.

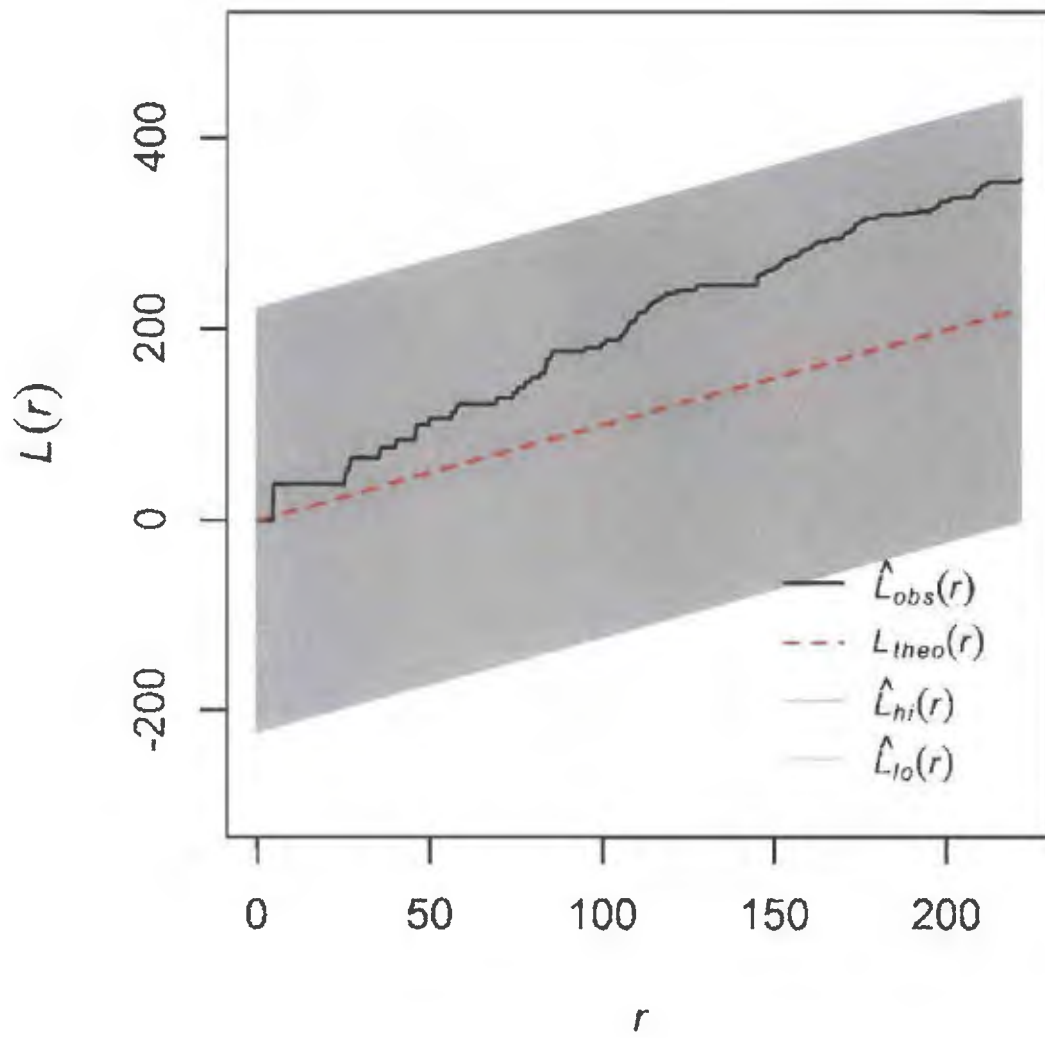


Fig. 15 Función  $L$  esperada y ajustada para el polígono de área peridomiciliar

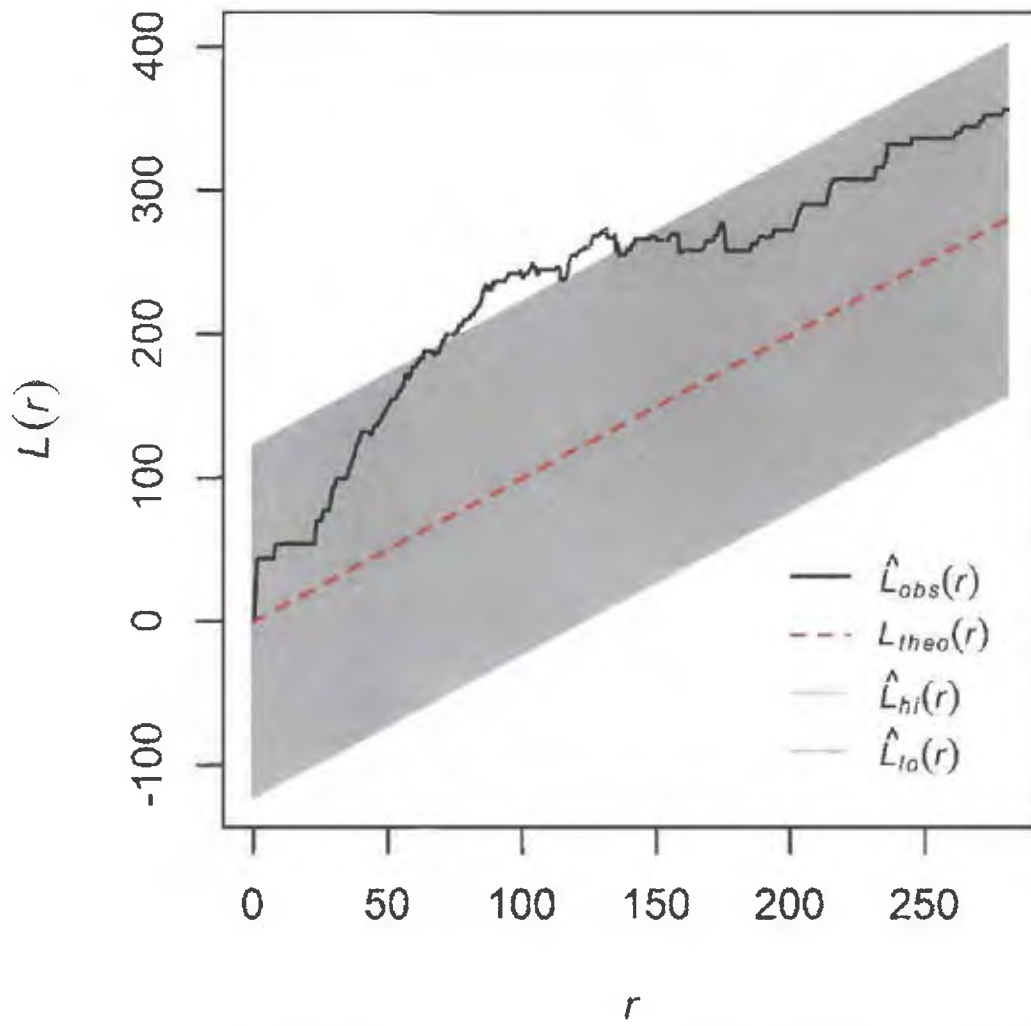


Fig. 16 Función  $L$  esperada y ajustada para el polígono de área de potreros.

## **5 4 Analisis multivariantes**

### **5 4 1 Infestación de palmas por triatomíneos**

Los análisis de regresión logística sugirieron que la temporada de muestreo fue un factor importante que explicaba la infestación de palmas por triatomíneos de cualquier estadio. Las probabilidades de infestación aumentaron 50 veces para chinches de cualquier estadio, 25 veces para ninfas y más de 17000 para adultos, durante la temporada de lluvias (Tabla N°2). Otro factor importante fue el número de racimos, ya que cada racimo aumentó las probabilidades de infestación en 24% y 39%, respectivamente para chinches en cualquier estadio o solo por ninfas (Tabla N°2). Los insectos adultos presentaron un 93% menos probabilidades de estar presentes en las palmas peridomiciliares, y aumentaron tres veces sus probabilidades de infestar una palma por cada metro adicional de altura que tuviera la palma (Tabla N°2). Mientras tanto, para cada penca verde adicional, las ninfas eran 13% menos propensas a infestar una palma, aunque este último valor tuvo una significancia en el límite de probabilidad de 0.05 (Tabla N°2).

### **5 4 2 Cambios en la abundancia de triatomíneos**

Siguiendo un patrón similar al observado con la infestación de palmas por triatomíneos, la temporada de muestreo tuvo un gran impacto en la abundancia de chinches (Tabla N°3). Las ninfas de 4to y 5to estadio fueron 146 veces y los adultos más



de 4000 veces mas abundantes durante la estacion lluviosa (Tabla N°3) Las ninfas de 4to y 5to estadio y adultos, aumentaron alrededor de 2 y 3 veces respectivamente, su abundancia con cada metro de altura en una palma determinada (Tabla N°3) La abundancia de las ninfas de 4to y 5to estadio incremento alrededor de un 30% debido a la presencia de cada racimo en las palmas, mientras que disminuyo alrededor del 13% por la presencia de cada penca verde (Tabla N°3) Por otra parte, la abundancia de los adultos disminuyo alrededor del 84% en las palmas peridomiciliares en comparacion con las de potrero (Tabla N°3)

#### **5 4 3 Infección en triatominos con tripanosomas**

La tasa de infección en triatominos con tripanosomas aumento aproximadamente cinco veces por cada casa que se encontrara a menos de 10 metros de la palma infestada (Tabla N°4) A su vez, la tasa de infeccion aumento alrededor del 12% por cada penca verde en las palmas, mientras que disminuyo 11% por cada penca seca/muerta (Tabla N°4) Estos resultados sugieren que las palmas mas verdes cerca de las casas si estaban infestadas, eran mas propensas a poseer chinches infectados con tripanosomas

#### **5 4 4 Validez de los modelos empleados**

Los modelos mas adecuados para la infestacion de chinches (Tabla N°2), la abundancia de chinches (Tabla N°3) y la infección de chinches (Tabla N°4) minimizaron

el Criterio de Información de Akaike (AIC), y en todos los casos no se rechazó la hipótesis nula de falta de autocorrelación espacial en los residuos del modelo (Tablas N° 2, 3 y 4) asegurando una inferencia adecuada de nuestros modelos. Además, en los modelos seleccionados la desviación residual era menor que sus grados de libertad asociados, lo que asegura que los modelos son apropiados (Faraway, 2006) y que no se justifica el uso de modelos para distribuciones de recuentos dispersas (Venables y Ripley 2002).

**Tabla N°2 Odds ratios y parámetros estimados para los mejores modelos logísticos que explican la infestación de las palmas por triatomíneos de diferentes estadios**

Estadio de chunches	Parametro	Odds Ratio	Estimado	S E	Valor z	Pr(> z )
Todos	Estacion Seca		-4 226	1 105	3 825	0 000131*
	Estacion lluviosa	49 048	3 893	0 812	4 793	1 64E 06*
	No Racimos	1 241	0 216	0 108	1 994	0 0462*
	I Moran		0 0678			0 907
	AIC		55 886			
	AIC FM		62 426			
			6 540			
Ninfas	Estacion Seca		1 781	1 161	1 534	0 125
	Estacion lluviosa	25 707	3 247	0 780	4 163	3 14E 05*
	No Pencas verdes	0 874	0 13436	0 0686	1 959	0 05
	No Racimos	1 389	0 328	0 146	2 243	0 0249*
	I Moran		0 0717			0 912
	AIC		60 007			
	AIC FM		65 483			
			5 476			
Adultos	Parameter	Odds Ratio	Estimado	df	LRT	Pr(>)
	Dry Season Grassland		23 888			
	Rainy Season	17440	9 767	1	31 424	2 07E 08*
	Peridomiliary	0 0739	2 605	1	4 763	0 0291*
	Palm Height (m)	3 0272	1 108	1	9 633	0 00191*
	I Moran		0 0326			0 657
	AIC		20 740			
	AIC FM		25 807			
			5 067			
	Lambda		0 00238			
	Desviacion del modelo		12 74			

\*Estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ )

**Tabla 3 Cambios en la abundancia y estimaciones de parámetros para los mejores modelos de Poisson que explican la abundancia de triatominos, de diferentes etapas, por palma**

Estadio de chunches	Parametro	Cambio en la abundancia	Estimado	S E	Valor z	Pr(> z )
Ninfas de 4th and 5th estadio	Estacion Seca		12 129	2 780	4 364	1 28E 05*
	Estacion lluviosa	146	4 986	1 004	4 964	6 91E 07*
	No Pencas verdes	0 870	0 139	0 0382	3 635	0 000278*
	Palm Height (m)	2 976	1 091	0 217	5 016	5 27E 07*
	No Infructescences	1 312	0 2715	0 0736	3 687	0 000227*
	I Moran		0 0257			0 583
	AIC		55 425			
	AIC FM		57 267			
Adultos			1 842			
	Parametro	Cambio en la abundancia	Estimado	df	LRT	Pr(>)
	Estacion Seca		20 136			
	Estacion lluviosa	4333	8 374	1	54 431	1 69E 13*
	Pendomiciliares	0 163	1 812	1	7 170	0 00741*
	Altura de la palma (m)	2 192	0 785	1	15 743	7 25E 05*
	I Moran		0 0422			0 758
	AIC		40 604			
	AIC FM		46 520			
			5 916			
	Lambda		0 00137			
	Deviance		14 401			

\*Estadísticamente significativo (P<0 05)

**Tabla N°4 Tasa proporcional cambio y parámetros de estimación para el modelo de tasa de Poisson explicando la infección de triatomíneos con *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos de palmas infestadas**

Parametro	Tasa proporcional de cambio	Estimado	S E	Valor z	Pr(> z )
Intercepto		2 040	0 954	2 138	0 0325
No Pencas verdes	1 117	0 110	0 0550	2 005	0 0449
No Pencas secas	0 890	0 116	0 0440	2 639	0 00832
No de casas a menos de 10 m	5 055	1 620	0 541	2 994	0 00275
I Moran		0 189			0 827
AIC		40 781			
AIC FM		42 321			
		1 540			

\*Estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ )

## 6 DISCUSION

La enfermedad de Chagas es una parasitosis sistémica y crónica ocasionada por el protozoo *T. cruzi*, el cual es transmitido por chinches hematofagos de la familia Reduviidae (WHO 2017). Actualmente se encuentra en 21 países de América, incluyendo a Panamá (OPS, 2007, WHO, 2017). El mal de Chagas fue descubierto en nuestro país hace más de 80 años (Miller 1931) y desde entonces se han desarrollado numerosos estudios que han permitido ampliar considerablemente el entendimiento sobre esta enfermedad. Pese a haberse reportado condiciones apropiadas para la transmisión de *T. cruzi* en casi todas las provincias del país (Sousa, 1972), la mayoría de los casos han sido detectados en la región central de Panamá. No obstante, gracias al esfuerzo de algunos investigadores recientemente se han detectado nuevos focos de infección al Norte de la provincia de Veraguas y en la región Este de Panamá (Calzada *et al*, 2010, Saldaña *et al* 2012).

El alto índice de infección natural con tripanosomas (67%) observado en la submuestra de chinches analizados, sugiere que *R. pallescens* juega un papel primordial en el mantenimiento del ciclo de transmisión selvática en esta región del país. Aunque estos índices de infección con tripanosomas son ligeramente inferiores a los que se describen en *R. pallescens* que habitan en la palma *A. butyraceae* en zonas endémicas de Panamá (~80%), la presencia de *T. cruzi* en el vector constituye un importante riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas para la población de esta región. En este sentido mediante pruebas moleculares pudimos detectar la presencia específica de *T. cruzi* y *T.*

*rangeli* infectando a los chinches en Pedasi, incluyendo una infección mixta por ambos parásitos. El parásito *T rangeli* se encuentran a menudo co-infectando a *R pallescens* e incluso a la misma persona. Ambas especies se consideran endémicas en el Neotrópico y co-ocurren dentro de Panamá (Sousa y Johnson, 1971, Sousa, 1972). Sin embargo, su mecanismo de transmisión difiere. En *T cruzi* ocurre cuando los humanos tienen contacto con heces de insectos infectados. Durante la ingesta de sangre, los triatomíneos depositan tripomastigotes junto con sus heces cerca del sitio de la picadura. Luego, las personas afectadas se rascan esta área arrastrando los parásitos en la herida o los ojos, lo que facilita la invasión de los tejidos internos (Telleria *et al*, 2010). *Trypanosoma rangeli* por el contrario es transmitido a través de la saliva cuando los insectos están tomando sangre (Pifano y Mayer, 1949; Zeledon, 1965). La infección causada por *T rangeli* reportada por primera vez en Panamá en 1957, es asintomática debido a su baja patogenicidad en comparación con la infección por *T cruzi* (Sousa y Johnson, 1971). *Trypanosoma rangeli* usualmente se encuentra infectando el tracto digestivo, la hemolinfa y las glándulas salivales de *R pallescens*, pero no parece ser capaz de infectar otros insectos incluyendo *T dimidiata* y *R prolixus* (Sousa, 1972). Esto implica que existe un alto grado de especificidad entre la cepa panameña de *T rangeli* y *R pallescens* (Pifano y Mayer, 1949). Sousa y Johnson (1971), basándose en exámenes microscópicos, reportaron que *T rangeli* es seis veces más prevalente que *T cruzi* en comunidades rurales de Panamá, Coclé y Colón. Sousa (1972) especuló que este fue el resultado de un contacto constante entre las personas y *R pallescens*, ya que este triatómino es el único capaz de transmitir

*T. rangeli* en Panamá. Sin embargo, *R. pallescens* se encuentra más frecuentemente infectado con *T. cruzi* que con *T. rangeli*, lo que sugiere diferencias en la competencia vectorial de *R. pallescens* para estos dos parásitos (Sousa y Johnson, 1973; Vásquez *et al.*, 1997; Zúñiga *et al.*, 1997). La mayor prevalencia de *T. rangeli* en humanos podría deberse a una forma más eficiente de transmisión vía saliva, en comparación con la de *T. cruzi* a través de heces contaminadas (Gourbière *et al.*, 2012). Algunos estudios también sugieren que este resultado es probablemente debido al hecho de que una exposición inicial a *T. rangeli* podría conferir protección inmunológica contra una infección posterior con *T. cruzi* (Sousa y Johnson, 1971; Vásquez *et al.*, 1997; Palau *et al.*, 2003). Los investigadores Calzada (2010) y Saldaña (2012) reportaron tasas de infección comparables de *T. cruzi* y *T. rangeli* en seres humanos y en *R. pallescens* en Santa Fe de Veraguas, y Chepo y Chimán al Este de Panamá.

Al igual que en otros estudios realizados en diferentes áreas endémicas de Panamá, nuestros análisis moleculares en tres aislados de *T. cruzi* demuestran que los parásitos que circulan en esta región pertenecen al linaje *T. cruzi* I (TcI). Este es el principal genotipo circulante en los ciclos selvático y doméstico/peridoméstico, y consecuentemente es el responsable de la enfermedad de Chagas en Panamá (Sousa *et al.*, 2006; Samudio *et al.*, 2007; Saldaña *et al.*, 2012). Se piensa que este linaje ha coevolucionado con *D. marsupialis*, fuente primaria de sangre de *R. pallescens*, al igual que con diversas especies de *Rhodnius* provenientes de hábitats arbóreos (Briones *et al.*, 1999; Vásquez *et al.*, 2004; Matthew *et al.*, 2005). Esta cepa difiere genéticamente de las cepas encontradas



en países suramericanos pertenecientes a los linajes Tc II a Tc V), lo cual podría explicar parcialmente el perfil clínico y biológico distinto encontrado en Panamá y en otros países de Norte y Centro América (Ruiz *et al* , 2005, Samudio *et al* 2007) Por ejemplo, diversos estudios de tránsito esofágico han confirmado que en nuestro país no existen, en pacientes locales, manifestaciones como megaesófago y megacolon. A su vez, se ha descrito que en Panamá el Mal de Chagas produce parasitemias muy bajas y de corta duración, y la fase crónica parece más benigna en comparación a la infección presente en Suramérica (Johnson *et al* 1962, Blandon *et al* 1969, Sousa, 1972) Los resultados de Vargas *et al* (2004) y Sousa *et al* (2006) atribuyen las variaciones sintomatológicas de esta enfermedad a la variabilidad genética poblacional del parásito aunado a diferencias inmunogenéticas de los hospederos. Alteraciones similares a las encontradas en pacientes panameños han sido detectadas también en ratas infectadas naturalmente con *T. cruzi* (*Rattus rattus*) y en perros (*Canis familiaris*) infectados experimentalmente (Johnson, 1938, Edgcomb *et al* 1973, Blandon *et al* 1974) Estos resultados coinciden con los hallazgos de Samudio *et al* en el 2007 quienes aislaron TcI de dos casos agudos fatales de perros y de una zarigueya ambos provenientes de áreas endémicas en la región Oeste de Panamá. Todos estos resultados sugieren que el genotipo predominante que circula en Panamá es TcI. Sin embargo, es necesario la realización de estudios que abarquen el análisis de muestras provenientes de otros chinches vectores, hospederos y humanos así como de distintas regiones endémicas del país para determinar la diversidad genética de *T. cruzi* en Panamá (Samudio *et al* , 2007)

## **6.1 Patrón espacial de las palmas**

Los análisis espaciales encontraron que las palmas en el área de estudio tenían diferentes patrones de disposición espacial según el tipo de uso de la tierra. Este hallazgo no interfiere en los estudios de asociación realizados ni aporta datos relevantes para los objetivos finales de este estudio. Sin embargo, estos resultados sí tienen aplicaciones importantes para estudios posteriores que busquen inferir la existencia de interacciones en comunidades y poblaciones de las palmas y otros individuos que interactúen en esta comunidad ecológica. Se asume que este tipo de análisis podría explicar los mecanismos subyacentes a la construcción de la estructura y al funcionamiento de la dinámica de poblaciones y comunidades (Wiegand *et al.* 2003, Seabloom *et al.*, 2005).

## **6.2 Factores de riesgo asociados con los indicadores entomológicos**

Nuestros análisis de regresión logística identificaron diversos factores que están asociados con la abundancia y la infestación de las palmas *A. aculeata* por chinches triatóminos en la región de Pedasí. Dentro de estos, la temporada de muestreo constituyó un factor sumamente importante ya que durante la época lluviosa aumentaron considerablemente las probabilidades de infestación de palmas por triatóminos de todos los estadios, así como también la abundancia de estos (Tablas N° 2, 3 y 4). Prueba de ello fueron las escasas colectadas de chinches, principalmente de adultos, durante los muestreos que realizamos en la época seca. Tal como se mencionó previamente, durante el periodo 2015-2016 se desarrolló uno de los tres episodios más intensos del Fenómeno

del Niño en los últimos 50 años (Comunicado de La Prensa 2016) En Panamá, El Niño típicamente trae una estación seca más prolongada y severa (Srygley *et al* , 2013), y sus repercusiones se acentúan en la región del Arco Seco (Capira Panamá, Cocle Herrera Los Santos y parte de Veraguas) (Comunicado de La Prensa, 2016) Se ha comprobado que el Fenómeno del Niño afecta la abundancia de vectores de enfermedades en nuestro país, como es el caso de las fluctuaciones registradas en las poblaciones de los vectores de Leishmaniasis cutánea (Chaves *et al* 2014) En el caso de las poblaciones de triatóminos estos son muy susceptibles a los cambios en las condiciones micro-ambientales de los ecotopos en donde se desarrollan, así como también a la disponibilidad de alimento (Schofield, 1994, Urbano *et al* 2015) A su vez, las condiciones de los micro hábitats disponibles en las palmas, pueden variar de acuerdo con las condiciones ambientales en donde se encuentran (Gurgel-Gonçalves *et al* , 2004) El Fenómeno del Niño además influye en la disponibilidad de hospederos susceptibles y en las poblaciones de reservorios silvestres (Chaves *et al* 2014), lo cual directa o indirectamente podría haber afectado la abundancia de las poblaciones de triatóminos durante los periodos de muestreo Debemos considerar también que los triatóminos poseen algunos mecanismos fisiológicos adaptativos de respuesta ante condiciones ambientales adversas Por ejemplo variación en la duración del periodo ninfal tasas de muda, eclosión de huevos, longevidad de los adultos, oviposiciones y periodos de inanición (Zeledon y Rabinovich, 1981, Gottdenker *et al* 2011) Todo esto puede generar variaciones en la presencia y abundancia de chinches al momento del muestreo

La prolongada e intensa estacion seca pudo tambien haber afectado el bajo numero de chinches adultos colectados durante el estudio. Al respecto se ha descrito que durante epocas de sequia y de mayor calor en una region, es cuando ocurre la mayor emigracion de individuos adultos desde el area selvatica hacia las comunidades (Dumonteil *et al* (2004, Hernandez *et al* 2010), lo que sugiere un mayor alto riesgo de transmision al humano durante este periodo. La emigracion de triatominos del area selvática como las palmas hacia las comunidades durante epocas de sequia puede deberse a la disminucion de fuentes de alimentación silvestres (Zeledon *et al* 1973, Sasaki *et al* 2003). Aunque tambien se conoce que los triatominos son atraídos por la luz artificial de las casas o del alumbrado publico (Monroy *et al* , 2003).

Con respecto a la fisionomia de la palma otro factor importante asociado con los indicadores entomologicos fue el numero de racimos. Con cada racimo aumento las probabilidades de infestacion para chinches en cualquier estadio, así como tambien su abundancia. Se considera que la presencia de infrutescencias en las palmas permite que las condiciones micro-climaticas sean mucho mas estables y favorece la llegada y anidamiento de vertebrados, los cuales son fuentes potenciales de alimento para los triatominos (Gurgel-Gonçalves *et al* 2004, Gurgel Gonçalves y Cuba Cuba, 2007, Schofield y Calvao, 2009). En nuestros resultados, la altura tambien favorecio las probabilidades de infestacion de palmas y la abundancia de chinches. Por otro lado, la presencia de pencas verdes las disminuyo. Al respecto otros estudios han descrito que la

presencia de materia organica descompuesta fue la diferencia mas significativa entre palmas infestadas y no infestadas (Abad Franch *et al* 2005)

La fisionomia de las palmas varia de acuerdo con el paisaje donde crecen y la biologia reproductiva de cada especie (Dransfield *et al* 2008) Esta acumulacion de biomasa en las coronas de las palmas es el resultado de los eventos reproductivos, el habitat donde crecen y la frecuencia de abscision de las pencas secas (Henderson *et al* 1995, Urbano *et al* 2015) Las palmas mas altas poseen una mayor acumulacion de biomasa en sus coronas y secundariamente esto genera mas interacciones con vertebrados, debido a sus multiples eventos reproductivos (Dransfield *et al* , 2008) En ese sentido, Urbano *et al* (2015) obtuvieron resultados similares a los nuestros Las palmas que presentan mas pencas verdes que secas, generalmente son palmas juveniles, con menor tamaño en sus coronas y consecuentemente podrian resultar menos atractivas como refugio para triatominos y vertebrados (Dransfield *et al* , 2008) En los sitios de muestreo seleccionados, se observo que las palmas que se encontraban en la cercania de casas y carreteras poseian menor numero de racimos y hojas secas Estas palmas son frecuentemente utilizadas con fines culinarios y ornamentales en los patios de las casas, y es comun observar que carecen de hojas secas y racimos debido a que estos son voluntariamente extraidos por sus propietarios Las practicas de limpieza de estas palmas empleadas en los centros urbanos podrian influir indirectamente en la abundancia de *R.pallescens* ya que reducen la disponibilidad de sitios con microclimas apropiados para el desarrollo de triatominos, asi como tambien, se reducen los espacios aptos para el

refugio de potenciales hospederos de estos chinchés. Como se mencionó anteriormente, la disminución de la abundancia de chinchés en las palmas peridomesticas podría relacionarse con la migración de los especímenes hacia las viviendas, principalmente adultos, ya que estos son atraídos por la luz artificial de las casas durante la noche (Angulo *et al*, 2012). Se ha comprobado experimentalmente que varias especies de triatomíneos se desplazan hacia las casas por causas como la disminución de refugios y hospederos, establecimiento de asentamientos humanos con casas de mala calidad, y atracción por la luz artificial de las viviendas (Dascoli y Gómez, 1966, Dias de Lima y Sherlock, 2000, Angulo *et al*, 2012). Conocer los factores fisiológicos de las palmas que estén asociados con la presencia y abundancia de vectores, así como con la infección con tripanosomas, permite diseñar estrategias de intervención en las palmas orientadas a disminuir el riesgo de transmisión de Chagas a los humanos (Abad-Franch, 2015).

La tasa de infección de los chinchés con tripanosomas se ve favorecida con la cercanía a las casas, ya que existe un incremento en la disponibilidad de recursos alimenticios hacia las áreas intervenidas, lo cual genera un constante flujo de vertebrados oportunistas posibles reservorios de tripanosomas (Urbano *et al*, 2015). Así, animales como zangueyas y canidos se concentran en las palmas próximas a los domicilios, en donde son atraídos por desechos alimenticios, productos vegetales y animales domésticos potenciales presas, lo cual aumenta el riesgo de transmisión de tripanosomas (Angulo *et al*, 2012). Esto podría considerarse como un factor de riesgo para la transmisión de

tripanosomas para los habitantes de viviendas cercanas a las palmas en la region de Pedasi

Uno de los factores que puede afectar la validez de nuestros resultados, es la eficiencia de las trampas de cebo empleadas para capturar los chinches. Estudios previos realizados en zonas endemicas de Chagas en Panama han demostrado que este mismo metodo de trampeo es una adecuada representacion de la abundancia relativa de chinches en palmas reales (Gottdenker *et al* 2011, Gottdenker *et al* 2012). Aunque esta es la primera vez que se emplean estas trampas en Panama para muestrear palmas de la especie *Acrocomia aculeata*, su similitud estructural con la palma real y los resultados de estudios realizados en otras latitudes avalan plenamente su eficiencia (Abad Franch *et al* , 2015). Ademas, el metodo de muestreo, empleado en este estudio es de menor riesgo y mas amigable con el medioambiente que los metodos anteriores para detectar la infestacion de las palmas basados en el derrumbe y diseccion de la palma.

## 7. CONCLUSIONES

- Se confirma por primera vez la presencia de *R. pallescens* infestando y colonizando la palma de corozo (*A. acuelata*) en la región de Pedasí, provincia de Los Santos, Panamá.
- Un 67% de los ejemplares de *R. pallescens* evaluados estaban infectados con tripanosomas.
- Mediante análisis moleculares se pudo determinar que tanto *T. cruzi* como *T. rangeli* infectan a *R. pallescens* en esta región. La caracterización molecular de aislados de *T. cruzi* confirmó que todos pertenecen a la UDT Tc1.
- La temporada de muestreo fue el factor más importante asociado con los índices entomológicos evaluados. Se observó un incremento altamente significativo en las probabilidades de infestación y en la abundancia de *R. pallescens* en las palmas, tanto ninfas como adultos, durante la época lluviosa.
- Otro factor importante asociado con la infestación fue el número de racimos. Por cada racimo se aumentó las probabilidades de infestación en 24% y 39%, respectivamente para chinches en cualquier estadio o sólo por ninfas.
- Los insectos adultos presentaron un 93% menos probabilidades de estar presentes en las palmas peridomiciliares, y aumentaron tres veces sus probabilidades de infestar una palma por cada metro adicional de altura que tuviera la palma.
- Las ninfas de 4to y 5to estadio y adultos, aumentaron alrededor de 2 y 3 veces, respectivamente, su abundancia con cada metro de altura en una palma determinada.



- La abundancia de las ninfas de 4to y 5to estadio incrementó alrededor de un 30% debido a la presencia de cada racimo en las palmas mientras que disminuyo alrededor del 13% por la presencia de cada penca verde. Por otra parte la abundancia de los adultos disminuyo alrededor del 84% en las palmas peridomiciliares en comparación con las de potrero.
- La tasa de infección en triatominos con tripanosomas aumento aproximadamente cinco veces por cada casa que se encontrara a menos de 10 metros de la palma infestada. A su vez, la tasa de infeccion aumento alrededor del 12% por cada penca verde en las palmas mientras que disminuyo 11% por cada penca seca/muerta.
- Los indicadores entomológicos sugieren que la transmision selvatica de la Enfermedad de Chagas esta establecida en esta region del pais, y que existe un riesgo inminente para los habitantes que viven cerca a estas palmas de corozo en esta region.

En resumen nuestro estudio identifico importantes factores de riesgo asociados con la infestacion, la abundancia y la infeccion con tripanosomas de chinches vectores de la Enfermedad de Chagas en palmas de la especie *A. aculeata* de la comunidad de Pedasi. Los resultados indican que estas palmas representan un habitat ventajoso para la supervivencia de *R. pallens* en esta zona seca del pais ya que proveen refugio para ellos y para las fuentes potenciales de alimento como aves, zarigüeyas, roedores entre otros.

Los indicadores entomológicos sugieren que la transmisión selvática de la enfermedad de Chagas está establecida en esta región del país, y que existe un riesgo inminente para los habitantes que viven cercanas a estas palmas de corozo en esta región. Ante esta nueva situación epidemiológica de la Enfermedad de Chagas en esta región del país, se requieren de investigaciones extensivas que estudien con mayor profundidad este potencial problema de salud pública en Pedasí.

Finalmente, los resultados de este estudio deben ser empleados por las autoridades de salud para implementar las tareas de vigilancia y control de la Enfermedad de Chagas, así como para el diseño de intervenciones dirigidas específicamente a las condiciones eco-epidemiológicas de la enfermedad prevalentes en la región de Azuero.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 ABAD FRANCH, F, PALOMEQUE, F AGUILAR, V, MILES, M 2005 Field ecology of sylvatic *Rhodnius populations* (Heteroptera Triatominae) risk factors for palm tree infestation in western Ecuador Tropical Medicine and International Health, 10(12) 1258 1266
- 2 ABAD FRANCH F, LIMA, M, SARQUIS O, GURGEL GONÇALVES, R, SANCHEZ MARTIN M, CALZADA J SALDAÑA A, MONTEIRO, F PALOMEQUE, F, SANTOS, W ANGULO V ESTEBAN L DIAS, F DIOTAIUTI, L, BAR, M, GOTTDENKER, N 2015 On palms bugs and Chagas disease in the Americas 2015 Acta Tropica, 151 126 141
- 3 ALBERT, A Y ANDERSON J 1984 On the existence of maximum likelihood estimates in logistic regression models Biometrika, 71 1-10 doi 10.1093/biomet/71.1.1
- 4 ANGULO, V ESTEBAN, L, LUNA, K 2012 *Attalea butyracea* proximas a las viviendas como posible fuente de infestacion domiciliaria por *Rhodnius prolixus* (Hemiptera Reduviidae) en los Llanos Orientales de Colombia Biomedica, 32 277 85
- 5 ARBOLEDA, S GORLA, D, PORCASI, X, SALDAÑA, A, CALZADA, J, JARAMILLO-O, N 2009 Development of a geographical distribution model of

- Rhodnius pallescens* Barber, 1932 using environmental data recorded by remote sensing. *Infect. Genet. Evol.*, 9: 441-448.
6. ATHONY, R., JOHNSON, C., SOUSA, O. 1979. Use of Micro-Elisa for quantitating anti- body to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28(6): 969-973.
  7. BADDELEY, A. 2008. Analysing spatial point patterns in R. Technical report, CSIRO, 2010. Version 4. URL <http://research.csiro.au/software/r-workshop-notes>.
  8. BADDELEY, A., TURNER, R. 2005. Spatstat: An R Package for Analysing Spatial Point Patterns. *Journal of Statistical Software*, 12: 1-42.
  9. BADDELEY, A., TURNER, R. 2006. Modelling spatial point patterns in R. In *Case studies in spatial point process modeling*. Springer New York, 23-74.
  10. BAR, M., WISNIVESKY-COLLI, C. 2001 *Triatoma sordida* Stal 1859 (Hemiptera, Reduviidae Triatominae) in Palms of Northeastern Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96(7): 895-899.
  11. BARBER, H. G. 1932. A new species of *Rhodnius* from Panama (Hemiptera: Reduviidae). *Journal Washington Acad. Sci*, 22(18,19): 514-517.
  12. BARGUES, M., KLISIEWICZ, D., GONZALEZ-CANDELA, F., RAMSEY, J., MONROY, C., PONCE, C., SALAZAR-SCHETTINO, P., PANZERA, F., ABAD-FRANCH, F., SOUSA, O., SCHOFIELD, C., DUJARDIN, J., GUHL, F., MAS-COMA, S. 2008. Phylogeography and genetic variation of *Triatoma dimidiata*, the

- main Chagas disease vector in Central America, and its position within the genus *Triatoma* PLoS Negl Trop Dis 2, e233
- 13 BASSO B CERVVETTA L , MORETTI E CARLIER, Y, TRUYENS, C 2004  
Acute *Trypanosoma cruzi* infection IL 12, IL 18 TNF sTNFR and NO in *T rangeli*  
vaccinated mice Vaccine, 22 1868-1872
  - 14 BLANDON R , GUEVARA, J , JOHNSON, C 1969 Transito esofagico en  
pacientes con enfermedad de Chagas en Panama Archivos de Gastroenterologia 6(4)  
1 189 196
  - 15 BLANDON R EDGCOMB J , GUEVARA, F , JOHNSON, C 1974  
Electrocardiographic changes in panamanian *Rattus rattus* naturally infected by  
*Trypanosoma cruzi* American Heart Journal 88(6) 758-764
  - 16 BLANDON R GUEVARA, J , JOHNSON, C 1976 Enfermedad de Chagas aguda  
en niños Sintomatologia y tratamiento Rev Med Panama, 1(3)
  - 17 BLANDON R , JOHNSON, C , LEANDRO, I , ACUNA E 1981 Chagas disease in  
children Pediatric Cardiology 4 614-618
  - 18 BRANDAO, A , SAMUDIO, F , FERNANDEZ O CALZADA, E , SOUSA, O  
2007 Genotyping of Panamanian *Trypanosoma cruzi* stocks using the calmodulin  
3 UTR polymorphisms Parasitol Res 102(3) 523-526
  - 19 BRIONES, M , SOUTO R , STOLF B , ZINGALES B , 1999 The evolution of two  
*Trypanosoma cruzi* subgroups inferred from rRNA genes can be correlated with the

- interchange of American mammalian faunas in the Cenozoic and has implications to pathogenicity and host specificity *Mol Biochem Parasitol* 104, 219-232
- 20 BRUNDSON, C COMBER, L 2015 An introduction to R for spatial analysis and mapping Sage Publications, LTD London
  - 21 CACERES L , ROVIRA, J , CALZADA J , SALDAÑA, J 2011 Evaluacion de la actividad toxica de los insecticidas piretroides deltametrina y lambdaci-halotrina en dos poblaciones de campo de *Rhodnius pallescens* (Hemiptera Reduviidae) de Panamá *Revista Biomedica*, 31(1)
  - 22 CALZADA, J PINEDA, V, MONTALVO E ALVAREZ, D SANTAMARIA, A SAMUDIO, F, BAYARD, V, CACERES L SALDAÑA A 2006 Human Trypanosome infection and the presence of intradomicile *Rhodnius pallescens* in the western border of the Panama Canal, Panama *Am J Trop Med Hyg* 74, 762-765
  - 23 CALZADA J , PINEDA V GARISTO J SAMUDIO, F, SATAMARIA, A , SALDAÑA, A , 2010 Short Report Human trypanosomiasis in the Eastern region of the Panama province new endemic areas for Chagas Disease *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(4) 580-582
  - 24 CALZADA, J , PINEDA, V, SALDAÑA, A MONFANTE, I , SANTAMARIA, A GOTT DENKER N YABSLEY, M , RAPOPORT, G 2011 Prevalence of trypanosome infections in dogs from Chagas disease endemic regions in Panama, Central America *Veterinary Parasitology*, 178 360-363

25. CECERE, M., GÜRTLER, R., CHUIT, R., COHEN, J. 1997. Effects of chickens on the prevalence of infestation and population density of *Triatoma infestans* in rural houses of north-west Argentina. Medical and Veterinary Entomology, 11:383-388.
26. CHAMPION, G., 1899. Insecta Rhynchota. Hemiptera-Heteroptera. Biologia Centrali Americana, Rhynchota 2, 229-243.
27. CHANIOTIS, B., CHRISTENSEN, H., VÁSQUEZ, A., WHITLAN Jr., J. 1980. Sylvatic hosts of *Rhodnius Pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) nymphs in then Panama Canal zone. J. Med. Entomol., 17(2): 182.
28. CHIURILLO, M., CRISANTE, G., ROJAS, A., PERALTA, A., DIAS, M., GUEVARA, P., ANEZ, N., RAMIREZ, J. 2003. Detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* infection by duplex PCR assay based on telomeric sequences. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 10: 775-779.
29. CHRISTENSEN, H., DE VASQUEZ, A. 1981. Host feeding profiles of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) in rural villages of central Panama. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 30: 278-283.
30. CHRISTENSEN, H., SOUSA, O., DE VASQUEZ, A. 1988. Host feeding profiles of *Triatoma dimidiata* in peridomestic habitats of western Panama. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 38(3): 477-479.
31. CLARK, H., DUNN, L. 1932. Experimental studies on Chagas disease in Panama. The American Journal of Tropical Medicine, 12(1): 49-77.

- 32 COURA, JR., DE CASTRO, SL 2002 A critical review on Chagas disease chemotherapy Mem Inst Oswaldo Cruz 97 3-24
- 33 DE COURSEY E 1935 The first fatal case of Chagas disease observed on the Isthmus of Panama The American Journal of Tropical Medicine, XV(1) 33 39
- 34 DIAS, J, SILVEIRA, A, SCHOFIELD, C 2002 The impact of Chagas Disease Control in Latin America - A Review Mem Inst Oswaldo Cruz 97(5) 603 612
- 35 DIAZ, S, PANZERA F JARAMILLO O N, PEREZ, R, FERNANDEZ, R, VALLEJO, G, SALDAÑA, A, CALZADA, J, TRIANA, O, GOMEZ PALACIO A 2014 Genetic, cytogenetic and morphological trends in the evolution of the *Rhodnius* (Triatominae: Rhodnini) transAndean group Plos One 9, e87493
- 36 DRANSFIELD J UHL, N ASMUSSEN, C, BAKER, W HARLEY M LEWIS C 2008 Genera palmarum Kew Royal Botanic Gardens 410-42pp
- 37 DUMONTEIL E 1999 Update on Chagas disease in Mexico Salud Publica Mex 41 322 327
- 38 DUMONTEIL E GOURBIERE S (2004) Predicting *Triatoma dimidiata* abundance and infection rate a risk map for natural transmission of Chagas disease in the Yucatan Peninsula of Mexico Am J Trop Med Health 70 514-519
- 39 DIGGIE P J 2013 Statistical analysis of spatial and spatio temporal point patterns CRC Press



- 40 DUNN L 1933 A natural infection of *Trypanosoma cruzi* Chagas found in *Rhodnius pallescens* Barber in Panama The American Journal of Tropical Medicine, 13(5) 471-473
- 41 DUNN L 1934 Notes on the Reduviid bug *Eratyrus cuspidatus* Stal, naturally infected with *Trypanosoma cruzi* Chagas found in Panama The American Journal of Tropical Medicine 14(3) 291-292
- 42 EDGCOMB, J, WALKER, D, JOHNSON, C 1973 Pathological features of *Trypanosoma cruzi* infections of *Rattus rattus* Arch Pathol, 96 36-39
- 43 FARAWAY, J 2006 Extending the Linear Model with R: Generalized Linear, Mixed Effects and Nonparametric Regression Models CRC Press Boca Raton
- 44 FERNANDES, O, SANTOS S, CUPOLILLO, E, MENDONÇA, B, DERRE R, JUNQUEIRA, A, SANTOS, L, STURM, N, NAIFF, R, BARRET, T, CAMPBELL, D, COURA, J 2001b A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon Trans R Soc Trop Med Hyg 95 97-99
- 45 FRIEDMAN J, HASTIE T, TIBSHIRANI R 2010 Regularization paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent 2010, 33, 22 doi: 10.18637/jss.v033.i01
- 46 GALINDO, P, FAIRCHILD G 1962 Notes on habits of two bloodsucking bugs, *Triatoma discolor* Lent, 1950, and *Eratyrus cuspidatus* Stal 1859 (Hemiptera Reduviidae) Proc Ent Soc Wash, 64(4) 229-230

- 47 GOMEZ PALACIOS, A JARAMILLO-OCAMPO N , TRIANA CHAVEZ O  
SALDAÑA, A CALZADA, J , PEREZ, R , PANZERA F 2008 Chromosome  
variability in the Chagas disease vector *Rhodnius pallescens* (Hemiptera, Reduviidae  
Rhodnini) Mem Inst Oswaldo Cruz, 103(2) 160 164
- 48 GOMEZ PALACIO, A TRIANA, O , 2014 Molecular evidence of demographic  
expansion of the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera, Reduviidae  
Triatominae) in Colombia PLoS Negl Trop Dis 8 e2734
- 49 GORGAS MEMORIAL LABORATORY 1966 Annual Report of the Gorgas  
Memorial Laboratory
- 50 GASCON J 2005 Diagnostico y tratamiento de la Enfermedad de Chagas  
importada Medicina clinica, 125(6) 230 5
- 51 GOTTDENKER, N CALZADA, J , SALDAÑA, A , CARROL, R 2011  
Association of anthropogenic land use change and increased abundance of the  
Chagas disease vector *Rhodnius pallescens* in a rural landscape of Panama The  
American Journal of Tropical Medicine 84(1) 70 77
- 52 GOTTDENKER, N , CHAVES L , CALZADA, J , SALDAÑA, A , CARROL, R  
2012 Host life history strategy species diversity, and habitat influence *Trypanosoma*  
*cruzi* vector infection in changing landscapes Neglected Tropical Disease, 6(11)  
1 11
- 53 GOURBIERE, S , DORN P TRIPET, F , DUMONTEIL, E 2012 Genetics and  
evolution of triatomines from phylogeny to vector control Heredity, 108 190-202

- 54 GURGEL GONÇALVES R , DUARTE, M , RAMALHO, E , PALMA, A ,  
ROMAÑA C- CUBA CUBA, C 2004 Distribuição espacial de populações de  
triatomíneos (Hemiptera Reduviidae) em palmeiras da espécie *Mauritia Flexuosa* no  
Distrito Federal, Brasil Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical  
37 241-247
- 55 GURGEL GONÇALVES, R Y C , CUBA CUBA, C 2007 Estructura de  
poblaciones de *Rhodnius neglectus* Lent e *Psammolestes tenuis* Lent & Jurberg  
(Hemiptera, Reduviidae) em ninhos de passaros (Furnáridae) presentes en la palmeira  
*Mauritia flexuosa* no distrito federal Brasil Rev Bras Zool, 24 157-63
- 56 HASHIMOTO, K , SCHOFIELD, C , 2012 Elimination of *Rhodnius prolixus* in  
Central America Parasit Vectors 5, 45
- 57 HENDERSON, A , GALEANO, G , BERNAL, R 1995 Field guide to the palms of  
the Americas Princeton University Press, Princeton, NY, USA, 363pp
- 58 HERNANDEZ, J REBOLLAR TELLEZ, E , INFANTE F , MORON, A ,  
CASTILLO, A 2010 Indicadores de infestación, colonización e infección de  
*Triatoma dimidiata* (Latreille) (Hemiptera Reduviidae) en Campeche, Mexico  
Neotropical Entomology, 39(6) 1024-1031 <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000600027>
- 59 HURTADO, L , CALZADA, J , PINEDA, V , GONZALEZ, K , SANTAMARIA A  
CACERES, L WALD C , SALDAÑA, A 2014 Conocimientos y factores de riesgo

- relacionados con la enfermedad de Chagas en dos comunidades panameñas donde *Rhodnius pallescens* es el vector principal Biomedica, 34 260 270
- 60 JOHNSON, C 1938 Cardiac changes in dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi* The American Journal of tropical Medicine, 18(2) 197 206
- 61 JOHNSON, C 1960 The 32nd Annual Report of the Gorgas Memorial Laboratory, 1959 U S Gov t Printing Office p 12
- 62 JOHNSON, C , KELSER R 1937 The incidence of Chagas disease in Panama as determined by the complement fixation test The American Journal of Tropical Medicine, XVII(3) 385-392
- 63 JOHNSON C DE RIVAS G 1935 Six new cases of Chagas disease in Panama with review of previous cases The American Journal of Tropical Medicine, 16(1) 47 57
- 64 JOHNSON, C , 1960 The 32nd Annual Report of the Gorgas Memorial Laboratory, U S Gov Printing Office 12
- 65 JOHNSON, C , SABONGE, R , GALVEZ, A , PINILLA, C 1962 Transito esofagico en enfermos con tripanosomiasis americana Arch Med Panameños 11,93
- 66 JOHNSON, C , EDGCOMB J , KINNEY, R 1971 Chagasic myocardiopathy The New England Journal of Medicine 285(22) 1262-1971
- 67 JURBERG, J , GALVAO, C , NOIREAU, F , CARCAVALLO, R , SILVA ROCHA, D , LENT, H , 2005 Uma iconografia dos Triatomíneos Une iconografie des Triatomes (Hemiptera Reduviidae) Filho C et al, editor Rio de Janeiro

- 68 KELSER R 1936 A complement fixation test for Chagas' disease employing an artificial culture antigen The American Journal of Tropical Medicine, 16(4) 405 415
- 69 KREUTZER, R , SOUSA, O 1981 Biochemical characterization of *Trypanosoma* spp By isozyme electrophoresis The American Journal of Tropical Medicine, 30(2) 308 317
- 70 KUHN M Y JOHNSON, K 2013 Applied predictive modeling, Springer, New York
- 71 LENT H , WYGODZINSKY, P 1979 Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease Bulletin of the American Museum of Natural History, 163(3) 123 520
- 72 LOZADA S MORAES R 2013 Estructura poblacional del totai (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) segun presencia de ganado en localidades de Beni y Santa Cruz (Bolivia) Ecologia en Bolivia 48(2)
- 73 MENDEZ E SOUSA, O 1979 Identificacion y distribucion de los triatominos de Panama (Hemiptera Reduviidae Triatominae) Revista Médica de Panama, 4 258 280
- 74 MENDEZ E SOUSA, O , TURNER, A Y 1997 Caracterizacion biologica y ecologica de los triatominos panameños (Hemiptera Reduviidae) Scientia, 12 7-66
- 75 MILLER J W 1931 Chagas disease in Panama report of three cases Journal of the Southern Medical Association Birmingham, Alabama, 24(7) 645 647

- 76 MONTEIRO F, PERETO LCHINA, T, LAZOSKI, C, HARRIS, K, DOTSON, E, ABAD FRANCH, F, TAMAYO E, PENNINGTON P, MONROY, C, CORDON-ROSALES, C, SALAZAR SCHETTINO, P, GOMEZ PALACIOS A, GRIJALVA, M, BEARD, C, MARCET, P. 2013. Phylogeographic pattern and extensive mitochondrial DNA divergence disclose a species complex within the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. Plos One 8: e70974.
- 77 ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. 2007. Estimacion cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Americas. Montevideo. 6: 17.
- 78 PALAU, M, MEJIA, A, VERGARA, U, ZUÑIGA C. 2003. Action of *Trypanosoma rangeli* in infections with virulent *Trypanosoma cruzi* populations. Mem Inst Oswaldo Cruz, 98: 543-548.
- 79 PANZERA, F, FERRANDIS I, RAMSEY, J, ORDOÑEZ R, SALAZAR-SCHETTINO, P, CABRERA, M, MONROY, M, BARGUES, M, MAS COMA S, O'CONNOR, J, ANGULO V, JARAMILLO, N, CORDON ROSALES, C, GOMEZ D, PEREZ R. 2006. Chromosomal variation and genome size support existence of cryptic species of *TRIATOMA DIMIDIATA* with different epidemiological importance as Chagas disease vectors. Trop Med Int Health, 2: 1092-1103.
- 80 PIFANO F, MAYER, M. 1949. Hallazgo de formas evolutivas del *Trypanosoma rangeli* en el jugo de la trompa de *Rhodnius prolixus* de Venezuela. Arch Venez Med Trop Parasitol Med. 2: 153-158.

- 81 PINEDA, V, MONTALVO, E , ALVAREZ, D SANTAMARIA, A SALDAÑA, A , CALZADA J 2008 Feeding source and Trypanosome infection index of *Rhodnius pallescens* in a Chagas disease endemic area of Amador country, Panama Rev Inst Med,Trop 50, 113-116
- 82 PIPKIN, A 1968 Domiciliary reduviid bugs and the epidemiology of Chagas disease in Panama (Hemiptera Reduviidae Triatominae) J Med Entomol , 5 107-124
- 83 RASSI A , RASSI A , MARIN NETO, J 2010 Chagas disease The lancet, 375 1378-402
- 84 ROBERTSON, A 1929 Note on a Trypanosome Morphologically Similar to *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909, found in an opossum, *Didelphis marsupialis*, captured at Tela, Honduras, C A Eighteenth Annual Report United Fruit Company Medical Department 293-310
- 85 ROCHA, M , TEIXEIRA, M , RIBEIRO, A 2007 An update on the management of Chagas cardiomyopathy Expert Rev Anti Infect Ther 5, 727-743
- 86 RODRÍGUEZ MORALES A 2005 Ecoepidemiología y epidemiología satelital nuevas herramientas en el manejo de problemas en salud pública Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 22(1) 54-63
- 87 ROMANHA, A J LISBOA, S , CORREIA, M , LANNES-VIEIRA, B , ZANI, C , SPADAFORA C , CHIARI E CHATELAIN, E , CHAVES, G , CALZADA, J , BUSTAMANTE J FREITAS JUNIOR L ROMERO, L , TEREZINHA, M , LOTROWSKA, M , SOARES M GUMES, S , ARMSTRONG T DEGRAVE W

- ARAUJO, Z 2010 In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease Mem Inst Oswaldo Cruz 105(2) 233-238
- 88 ROZEBOOM, L 1936 *Triatoma dimidiata* Latr, found naturally infected with *Trypanosoma cruzi* Chagas in Panama The American Journal of Tropical Medicine, 16(4) 481-484
- 89 RUIZ, R, DE LEON, M, MATTA, V, REYES, P, LOPEZ, R, JAY, D, MONTEON V 2005 *Trypanosoma cruzi* isolates from Mexican and Guatemalan acute and chronic chagasic cardiopathy patients belong to *Trypanosoma cruzi* I Mem Inst Oswaldo Cruz, 100 281 283
- 90 SALDAÑA A, SOUSA, O, ORN A 1995 Virulence clones from Panama humoral immune responses and antigenic cross-reactions with *Trypanosoma rangeli* in experimentally infected mice Scand J Immunol, 42 644-650
- 91 SALDAÑA, A SAMUDIO, K, MIRANDA, A, HERRERA, L, SAAVEDRA, S CACERES L BAYARD V AND CALZADA J 2005 Predominance of *Trypanosoma rangeli* infection in children from a Chagas disease endemic area in the west shore of the Panama Canal Mem Inst Oswaldo Cruz 100(7) 729 731
- 92 SALDAÑA, A, PINEDA, V, MONTALVO, E, ALVAREZ, D, SANTAMARIA, A, CAZADA E 2008 Feeding source and trypanosome infection index of *Rhodnius pallescens* in a Chagas disease endemic area of Amador country Panama Rev Inst Med trop 50(2) 113 116



- 93 SALDAÑA, A , PINEDA, V , MATINEZ, I , SANTAMARIA, G , SANTAMARIA A , MIRAN- DA, A CALZADA, J 2012 A new endemic focus of Chagas disease in the Northern region of Veraguas province Western half Panama Central America PloS ONE 7(4) e34657
- 94 SAMUDIO, F , ORTEGA BARRIA E , SALDAÑA, A CALZADA, J 2007 Predominance of *Trypanosoma cruzi* I among panamanian sylvatic isolates Acta Tropica, 101 178-181
- 95 SASAKI, H , ROSALES, R , TABARU, Y , 2003 Host feeding profiles of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in Guatemala (Hemiptera Reduviidae Triatominae) Med Entomol Zool , 54 283-289
- 96 MONROY, M , BUSTAMANTE D RODAS, A ENRIQUEZ M ROSALES R 2003 Habitats, dispersion and invasion of sylvatic *Triatoma dimidiata* (Hemiptera Reduviidae Triatominae) in Peten Guatemala J Med Entomol , 40 800-806
- 97 SCHOFIEL, C 1994 Triatominae Biología y Control Eurocommunica Publications, West Sussex UK 80 pp
- 98 SCHOFIEL C CALVAO C 2009 Classification evolution and species groups within the Triatominae Acta Tropica, 110 88 100
- 99 SOEIRO M DAILYRI A , SILVA, C , BATISTA D , SOUZA, E OLIVEIRA G , SALOMÃO, K , BATISTA M , PACHECO M , SILVA P , SANTA RITA, R , MENNA-BARRETO, R , BOYKIN, D , DE CASTRO, S 2009 Experimental

- chemotherapy for Chagas disease 15 years of research contributions through in vivo and in vitro studies Mem Inst Oswaldo Cruz, 104 301-310
- 100 SOUSA, O Y JOHNSON, C 1971 Frequency and distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in the Republic of Panama The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 20 405-410
- 101 SOUSA O 1972 Anotaciones sobre la enfermedad de Chagas en Panama Frecuencia y distribucion de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* Revista de Biologia Tropical 20 167-179
- 102 SOUSA O AND GALINDO P 1972 Natural infections of *Triatoma discolor* Lent 1950 with *Trypanosoma cruzi* in Panama The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 21(3) 293-295
- 103 SOUSA, O AND JOHNSON, C 1973 Prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in triatomines (Hemiptera Reduviidae) collected in the Republic of Panama The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 22 18-23
- 104 SOUSA O ROSSAN R BERG D 1974 The prevalence of trypanosomes and microfilariae in Panamanian monkeys The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 23 862-868
- 105 SOUSA, O Y DAWSON, G 1976 Trypanosome infections in the Marmoset (*Saguinus Geoffroyi*) from the Panama Canal Zone The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 25(3) 407-409

- 106.SOUSA, O. Y ADAMES, A. 1977. Geographical extension en a new ecological association of *Panstrongylus humeralis* (Hemiptera: Reduviidae), natural host of *Trypanosoma cruzi* in Panamá. J. Med. Entomol, 13: 748-749.
- 107.SOUSA, O., WOLDA, H., BATISTA, F. 1983. Triatominos encontrados en el ambiente silvestre de la Isla Barro Colorado. Rev. Med. Panamá 8, 50-55.
- 108.SOUSA, O., 1985. Isolation and amplification techniques. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 18: 23-27.
- 109.SOUSA, O., SAMUDIO, F., JUNCÁ, C., CALZADA, J. 2006. Molecular characterization of human *Trypanosoma cruzi* isolates from endemic areas in Panamá, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 101: 455-457.
- 110.SRYGLEY, R. DUDLEY, R., OLIVEIRA, E., RIVEROS, A. 2013. El Niño, Host Plant Growth, and Migratory Butterfly Abundance in a Changing Climate. Biotropica, 46: 90-97.
- 111.TELLERIA, J., TIBAYRENG, M. 2010. American Trypanosomiasis Chagas Disease: One Hundred Years of Research. Elsevier First edition.
- 112.URBANO, P., POVEDA, C. Y MOLINA, J. 2015. Effect of the physiognomy of *Attalea butyracea* (Arecoideae) on population density and age distribution of *Rhodnius prolixus* (Triatominae), Parasites & Vectors, 8: 199.
- 113.USINGER, R. 1944. The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance. Public. Health Bull., 288, 81.

- 114 VARGAS, N , PEDROSO, A , ZINGALES, B 2004 Chromosomal polymorphism, gene synteny and genome size in *T. cruzi* I and *T. cruzi* II grupos Mol Biochem Parasitol , 138 131-134
- 115 VASQUEZ, J, KRUSNELL, J, SOUSA O HARRIS, R 1997 Serological diagnosis of *Trypanosoma rangeli* infected patients A comparison of different methods and its implications for the diagnosis of Chagas disease Journal of Immunology, 45 322 330
- 116 VASQUEZ, A , SAMUDIO, F, SALDAÑA, A , PAZ, H , CALZADA, J 2004 Ecoepidemiological aspects of *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli* and their vector (*Rhodnius pallescens*) in Panama Rev Inst Med Trop , 46(4) 217-222
- 117 VENABLES, W, RIPLEY B 2002 Modern applied statistical with S, Springer, New York
- 118 WALTON, B , SOUSA, O 1967 Trypanosomes of the lesser anteater *Tamandua tatredactyla* from Panama Journal of Parasitology, 53 956-961
- 119 WEYNON, C 1926 Protozoology Wm Wood and Company New York , 479-481
- 120 WHITLAW J CHANIOTIS B 1978 Palm-tree and Chagas disease in Panama The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 27(5) 873 881
- 121 WIEGAND, T, JELTSCH, F, HANSKI I Y GRIMM V 2003 Using pattern oriented modeling for revealing hidden information a key for reconciling ecological theory and application *Oikos*, 100 209-222

- 122 WOOD D 1975 *Trypanosoma cruzi* Fatty Acid Metabolism in Vitro Experimental Parasitology, 37 60 66
- 123 WOOD D SOUSA O 1976 *Trypanosoma cruzi* Effects of *Rhodnius prolixus* extracts on in vitro development Rev Inst Med trop Sao Paulo 18 93 96
- 124 WORLD HEALTH ORGANIZATION (2003) Control de la enfermedad de Chagas segundo informe del comite de expertos de la OMS
- 125 WORLD HEALTH ORGANIZATION 2012 La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana) Nota descriptiva No340 Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>
- 126 WORLD HEALTH ORGANIZATION 2017 La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana) Nota descriptiva No340 actualizada Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>
- 127 ZELEDON, R 1965 *Trypanosoma rangeli* en glandulas salivales de *Rhodnius pallescens* de Panama Rev Biol Trop 13, 157 159
- 128 ZELEDON, R , SOLANO G ZUNIGA, A , SWARTZWELDER J 1973 Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) 3 habitat and blood sources J Med Entomol 10 363 370
- 129 ZELEDON, R Y RIBANOVICH, J 1981 Chagas disease and ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors Annu Rev Entomol 26 101-33

130. ZÚÑIGA, C., PALAU, T., PENIN, P., GAMALLO, C., DE DIEGO, J., 1997.

Protective effect of *Trypanosoma rangeli* against infections with a highly virulent strain of *Trypanosoma cruzi*. Trop. Med. Int. Health 2, 482-487.

## **9. ANEXO**

**Universidad de Panamá**  
**Vicerrectoría de Investigación y Postgrado**  
**Programa Centroamericano de Maestría en Entomología**

**Proyecto Características eco-biológicas de las poblaciones de *Rhodnius pallescens***  
**en palmas *Acrocomia aculeata* del distrito de Pedasi, provincia de Los Santos,**

**Panamá**

**Anexo 1 Características de *Acrocomia aculeata* (palmas de corozo) muestreadas**

Código \_\_\_\_\_ Comunidad \_\_\_\_\_ Uso de tierra \_\_\_\_\_  
 Fecha de la primera inspección \_\_\_\_\_ Coordenadas geográficas de  
 la palma \_\_\_\_\_ Dueno de la palma/  
 finca \_\_\_\_\_  
 Altura aproximada (mts) \_\_\_\_\_ Diámetro de la base (mts) \_\_\_\_\_ La palma ha sido  
 quemada recientemente? Si ( ) No ( ) La palma ha sido desfoliada recientemente? Si ( ) No ( )  
 Número de pencas verdes \_\_\_\_\_ Número de pencas secas \_\_\_\_\_ Número de  
 racimos de corozo \_\_\_\_\_ Presencia de epifitas \_\_\_\_\_ Material seco \_\_\_\_\_  
 Presencia de aves o sus nidos Si ( ) No ( ) Presencia de nidos de mamíferos Si ( ) No ( )  
 Presencia de mamíferos durante la inspección Si ( ) No ( )  
 ¿Cuales mamíferos? \_\_\_\_\_  
 La palma está en un área Totalmente sombreada ( ) Parcialmente Sombreada ( ) Soleada ( )  
 La palma está cerca (<100 mts) de Bosques ( ) Potreros ( ) Cultivos ( ) Viviendas ( ) Otros \_\_\_\_\_  
 Vegetación cercana (<25 mts) a la palma Árboles ( ) Arbustos ( ) Maleza ( ) Otros \_\_\_\_\_  
 Presencia de arbustos o ramas de árboles en contacto con la palma Si ( ) No ( )  
**Palmas de corozo cercanas**  
 Palmas de corozo cercanas (<50 mts) Si ( ) No ( ) Número de palmas cercanas \_\_\_\_\_  
 Distancia 5 10 mts (Nº \_\_\_\_\_) 11 25 mts (Nº \_\_\_\_\_) 26 50 mts (Nº \_\_\_\_\_)  
 Características físicas de las palmas cercanas (epifitas material seco podadas quemadas etc) \_\_\_\_\_  
**Viviendas cercanas**  
 Viviendas cercanas Si ( ) No ( ) Número de viviendas cercanas (<50 mts) \_\_\_\_\_  
 Distancia 5 10 mts (Nº \_\_\_\_\_) 11 25 mts (Nº \_\_\_\_\_) 26 50 mts (Nº \_\_\_\_\_)  
 Características de las viviendas cercanas (dueño coordenadas techos paredes pisos etc) \_\_\_\_\_  
**Presencia de Triatomíneos**  
 Capturados Manualmente ( ) Trampas ( ) Solo observados ( )  
*R. pallescens* Ninfas ( ) Muchos (>10) ( ) Pocos (2-5) ( ) 1 ( ) Alimentados Si ( ) No  
 ( ) Estadio I \_\_\_\_\_ II \_\_\_\_\_ III \_\_\_\_\_ IV \_\_\_\_\_ V \_\_\_\_\_  
 Machos \_\_\_\_\_ Hembras \_\_\_\_\_



Otras especies encontradas:

---

---

Otras observaciones:

---

---

---

---